

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PRISCILA DA PENHA APOLINÁRIO BARBOZA

**EFEITOS DO CARVEDILOL NA HIPERTROFIA VENTRICULAR
ESQUERDA DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Uberlândia

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- B239e Barboza, Priscila da Penha Apolinário, 1978-
Efeitos do Carvedilol na hipertrofia ventricular esquerda de
ratos espontaneamente hipertensos [manuscrito] / Priscila da Penha
Apolinário Barboza. – 2011.
67 f. : il.
Orientador: Elmiro Santos Resende.
Co-orientadora: Célia Regina Lopes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Inclui bibliografia.

1. Hipertensão - Tratamento - Teses. 2. Carvedilol - Teses. 3.
Coração - Hipertrofia - Teses. I. Resende, Elmiro Santos. II. Lopes,
Célia Regina. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 616.12 - 008.331.1-085

PRISCILA DA PENHA APOLINÁRIO BARBOZA

**EFEITOS DO CARVEDILOL NA HIPERTROFIA
VENTRICULAR ESQUERDA DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof.Dr. Elmiro Santos Resende

Co-orientadora: Profa.Dra. Célia Regina Lopes

Uberlândia

2011

PRISCILA DA PENHA APOLINÁRIO BARBOZA

**EFEITOS DO CARVEDILOL NA HIPERTROFIA
VENTRICULAR ESQUERDA DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde

Aprovada em 24 de Fevereiro de 2011

Banca Examinadora

Prof. Dr. Elmíro Santos Resende (Universidade Federal de Uberlândia)

Prof. Dra. Cristiane Del Corsso (Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Prof. Dr. Álvaro Ribeiro Barale (Universidade Federal de Uberlândia)

Prof. Dr. Carlos Henrique Alves de Resende (Universidade Federal de Uberlândia)

Uberlândia

2011

AGRADECIMENTOS

À Deus, que nunca me abandonou, e sempre está comigo em todos os momentos da minha vida.

A minha família, que soube compreender a distância, e sempre me apoio, em todos os momentos da minha vida.

Aos meus amigos que mesmo ausentes, sempre me deram apoio de longe para prosseguir a caminhada.

Ao meu orientador, **Elmíro Santos Resende**, um ser humano maravilhoso que pude encontrar na minha vida, que me ensinou o respeito e amor pela pesquisa. Obrigada por acreditar em mim e no meu trabalho e pela paciência, atenção e carinho demonstrados em todos os momentos.

À minha co-orientadora **Célia Regina**, que sempre esteve disposta quando a solicitei, sempre pronta para tirar minhas dúvidas, e as alunas de Iniciação Científica, **Aretusa, Alice, Marilia, Laura**, muitíssimo obrigada.

A minha amiga **Raquel Rodrigues**, uma pessoa que me incentivou e foi uma irmã, sempre esteve presente em todos os momentos. Obrigada pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos **Luiz Uhôa Júnior, Fábia Diniz, Juliana Andreo, Glória Menezes**, entre outros, que, direta e indiretamente, me apoiaram e me deram força para chegar até o final desta jornada.

Ao laboratório de Fisiologia da UFTM, ao professor **Valdo José Dias**, que me ensinou a realizar as pesquisas com ratos SHR. Obrigada por me receber em seu laboratório.

Aos laboratórios da Técnica Cirúrgica, Imunologia e Parasitologia, Histologia, Bioquímica e Fisiologia da UFU. Obrigada aos técnicos e professores que me auxiliaram no manuseio dos aparelhos para as minhas pesquisas

Aos amigos da **Telemedicina**, obrigada por aguentar meus estresses, minhas angústias, sempre me apoiando e me dando coragem.

“Lembre-se, as pessoas podem tirar tudo de você, menos o seu conhecimento. É o seu bem mais precioso. Explore, viaje e descubra”

ALBERT EINSTEIN

“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha. É porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso”.

CHARLES CHAPLIN

RESUMO

A hipertrofia cardíaca é um dos principais mecanismos pelos quais o coração compensa estados crônicos de sobrecarga hemodinâmica e é uma das complicações da hipertensão arterial. Vários modelos animais tem sido propostos para o estudo da hipertensão arterial e de suas complicações, dentre esses, aquele que utiliza ratos espontaneamente hipertensos. O carvedilol é um bloqueador alfa e beta adrenérgico não seletivo com efeitos hipotensores e de redução da hipertrofia cardíaca. O presente estudo verificou os efeitos do carvedilol na hipertrofia cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos. Foram utilizados 14 ratos SHR e 14 Wistar distribuídos em quatro subgrupos com sete animais cada: SHR-Medicamento (SHR-M), SHR-Controle (SHR-C), Normais-Medicamento (N-M) e Normais-Controle (N-C). Os SHR-M e N-M receberam 5mg/kg de carvedilol em solução aquosa e os controles apenas água durante quatro semanas. Comparou-se o peso corporal (PC), pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) no início e no fim do experimento. Para avaliação da hipertrofia cardíaca, ao final do experimento o coração e o ventrículo esquerdo (VE) foram pesados e comparados; mediu-se também o diâmetro transversal dos cardiomiócitos ventriculares e quantificou-se o teor de colágeno. As análises estatísticas empregaram o teste t de Student, ANOVA e Kruskall Wallis. O PC aumentou em todos os grupos; o peso final do SHR-C foi menor que o N-C. A PA não foi reduzida pelo carvedilol em nenhum dos dois grupos que o receberam. O peso total do coração também não foi alterado pela medicação; o peso do VE foi maior no SHR-C em relação ao N-C e no SHR-M em comparação ao N-M. O diâmetro transversal dos cardiomiócitos foi maior nos grupos SHR-M e SHR-C. A quantidade de colágeno não foi alterada pelo medicamento. Em conclusão, em ratos SHR, o carvedilol não reduziu a PA, FC, peso do coração e peso do VE. O peso do VE foi maior nos grupos SHR em relação aos normais. O diâmetro transversal dos cardiomiócitos foi maior nos SHR e não foi modificado com o carvedilol que também não alterou a quantidade de colágeno no VE destes animais.

Palavras- Chaves: carvedilol, hipertensão, hipertrofia do ventrículo esquerdo

ABSTRACT

Cardiac hypertrophy is a major mechanism by which the heart compensates for chronic conditions of overload, is a feature of hypertension. Carvedilol is a not selective alpha and beta adrenergic blocker which acts on cardiac hypertrophy (HC) with hypotensive effects. The present study has the objective to verify the effects of carvedilol on HC of SHR rats. We used 14 each: SHR and Wistar rats. Animals were divided into two subgroups with seven animals: SHR-Drug (SHR-M), SHR-control (SHR-C) Normal-Drug (N-M) and Normal-Control (N-C). SHR-M and N-M received 5mg/kg of carvedilol by gavage while controls received only water for 4 weeks. We compared the body weight (BW), blood pressure (BP) and heart rate (HR) at the beginning and at end of the experiment. and, finally, heart and left ventricular weight (LV). We measured the cardiac hypertrophy estimating the heart and left ventricular weight, transverse diameter of ventricular cardiomyocytes and collagen. Student t test, ANOVA and Kruskal Wallis were used in statistical analyse. The BW increased in all groups, the final weight of SHR-C body weight was lower than the N-C. BP was not reduced by carvedilol; BP of SHR-C was higher than N-C. Total weight of the heart has not decreased, the LV weight was greater in SHR-C when compared to the N-C and in SHR-M when compared to N-M. The transverse diameter of cardiomyocytes was greater in SHR-F and SHR-C. The amount of collagen remained unchanged. In conclusion, in SHR, carvedilol is not able to reduce BP, HR, heart weight and left ventricular weight. The LV weight was greater in SHR. The transverse diameter of cardiomyocytes was greater in SHR and remained unchanged with carvedilol that does not alter the left ventricular amount of collagen in those animals.

Key words: carvedilol, hypertension, left ventricular hypertrophy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular do Carvedilol	22
Figura 2: Aferição de PA e FC na pletsmografia de cauda.....	31
Figura 3: Pressão de pulso obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos	32
Figura 4: Pressão arterial obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos.....	32
Figura 5: Frequência cardíaca obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos.....	33

LISTA DAS TABELAS

Tabela 1: Média e desvio padrão do peso corporal antes e após quatro semanas de intervenção.....	36
Tabela 2: Variação da média do peso corporal.....	37
Tabela 3: Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica.....	38
Tabela 4: Variação da média da pressão arterial sistólica.....	39
Tabela 5: Média e desvio padrão da FC antes e após intervenção.....	40
Tabela 6: Variação da média da FC.....	41
Tabela 7: Média e desvio padrão peso do coração e VE.....	42
Tabela 8: Média dos diâmetros dos cardiomiócitos.....	43
Tabela 9: Percentagem da média quantidade de colágeno do VE.....	43

LISTA DOS GRÁFICOS

Gráfico 1: Peso corporal antes e após quatro semanas.....	36
Gráfico 2: Variação da média do peso corporal.....	37
Gráfico 3: Valores da pressão arterial sistêmica.....	38
Gráfico 4: Variação da média da pressão arterial sistêmica.....	39
Gráfico 5: Média da frequência cardíaca antes e após quatro semanas.....	40
Gráfico 6: Variação da média da frequência cardíaca.....	41
Gráfico 7: Média do peso do coração e do ventrículo esquerdo.....	42
Gráfico 8: Média dos diâmetros dos cardiomiócitos.....	43

LISTA DAS ABREVIATURAS

AMPC = Adenosina monofosfato cíclico

BBs = Beta bloqueadores

FC= Frequência cardíaca

FDA = Food and drug administration

HAS = Hipertensão arterial sistêmica

HVE = Hipertrofia ventricular esquerda

NIH= National Institute of Health

PA = Pressão arterial

PAS= Pressão arterial sistólica

PC= Peso corporal

SHR = Spontaneously Hypertensive Rats

VE = Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1.Hipertrofia Ventricular esquerda e hipertensão.....	17
2.2.Hipertrofia Ventricular de Esquerda.....	18
2.3. Mecanismo de ação dos Betabloqueadores	19
2.4. Carvedilol	22
2.5. Modelo Animal para o Estudo da Hipertensão Arterial	23
2.6. Justificativa	25
3.OBJETIVOS	
3.1 Objetivo Geral	26
3.2 Objetivo Específico.....	26
4.METODOLOGIA.....	28
4.1 Animais.....	29
4.2 Grupos.....	29
4.3 Procedimento Experimental.....	31
4.4 Análises microscópicas da fibra muscular cardíaca.....	34
4.5 Análise Estatística.....	34
5.RESULTADOS.....	35
5.1 Peso.....	35
5.2 Pressão Arterial.....	38
5.3 Frequência Cardíaca.....	40
5.4 Peso do coração e do ventrículo esquerdo.....	41
5.5 Diâmetro das fibras musculares ventriculares.....	43
6-DISCUSSÃO.....	49
7-.CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	56
ANEXO.....	58

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA); tem alta prevalência e baixas taxas de controle em todo o mundo constituindo-se em um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares e, portanto, um grave problema de saúde pública. Apresenta custos socieconômicos elevados, decorrentes principalmente das complicações que ocorrem e implicam na doença cerebrovascular, coronariana, na insuficiência cardíaca e doença vascular periférica (SBC, 2010).

A prevalência de HAS nas cidades brasileiras nos últimos 20 anos ficou acima de 30%. (CESARINO et al, 2008; ROSÁRIO et al, 2009). Observa-se que o cuidado com os pacientes está progressivamente deixando de ser empírico para utilizar tratamentos mais específicos, individualizados e de maior efetividade. Desde o início dos anos 80, os estudos epidemiológicos vêm demonstrando redução dos eventos cardiovasculares com este tipo de enfoque terapêutico, principalmente com relação ao acidente vascular cerebral. Os efeitos favoráveis decorrentes do tratamento da HAS sobre a insuficiência coronariana e suas complicações como o infarto do miocárdio e morte súbita, são, infelizmente, menos expressivos (OIGMAN; NEVES, 1999).

A hipertensão arterial é classificada, de acordo com sua etiologia, em dois tipos: primária, quando não existe causa definida para a elevação da pressão arterial, e secundária, quando a hipertensão está relacionada a uma doença de base (PORTO, 1998).

O tratamento da hipertensão arterial sistêmica é feita com medicamentos que tenham o máximo possível de eficácia na redução da pressão arterial sem, entretanto, interferir negativamente nos aspectos relacionados à qualidade de vida. Eles também não devem produzir alterações metabólicas deletérias e, ainda, que efetivamente atuem reduzindo a morbidade e mortalidade (BRANDÃO, 2000). Neste sentido, a principal meta do tratamento anti-hipertensivo é promover a redução da morbimortalidade. As medicações, quando usadas, devem, além de reduzir os níveis pressóricos, oferecer, sempre que possíveis, benefícios adicionais na proteção dos órgãos-alvo da doença hipertensiva (BATISTA; TAVARES, 2000)

Como está bem estabelecido na literatura médica, o tratamento farmacológico da hipertensão arterial deve ser individualizado levando-se em consideração a gravidade da hipertensão, os fatores de risco cardiovasculares associados, o comprometimento dos órgãos-alvo, as comorbidades, as características como idade e etnia, dentre outros fatores (BATISTA; TAVARES, 2000). O objetivo final da terapia anti-hipertensiva é reduzir a morbimortalidade de pacientes que apresentam elevado risco cardiovascular como os diabéticos, em especial aqueles com micro-albuminúria, portadores de insuficiência cardíaca, nefropatia e vasculopatias periféricas, além de proporcionar prevenção primária e secundária de eventos isquêmicos, como o acidente vascular cerebral (CORRÊA et al, 2005).

A HAS acompanha-se frequentemente de hipertrofia ventricular esquerda (HVE) que surge como uma resposta compensatória do coração e tem o objetivo de normalizar a tensão da parede ventricular (LORELL; CARABELLO, 2000).

Um grupo farmacológico importante dentre os medicamentos desenvolvidos para o controle da hipertensão arterial sistêmica são os bloqueadores beta-adrenérgicos. O carvedilol é um representante deste grupo e tem efeito não-seletivo sobre os receptores beta 1, 2 e alfa-1. Tem recomendação classe I para o tratamento da insuficiência cardíaca em todas as classes funcionais (BRUNTON, 2007, 2007). Além destes efeitos relacionados ao bloqueio adrenérgico, o carvedilol é um potente antioxidante neutralizando radicais livres de oxigênio, conforme demonstrado por estudos em animais, tanto *in vitro* como *in vivo*, e em vários tipos de células humanas, *in vitro*.

Este estudo justifica-se pela importância de se averiguar os efeitos do carvedilol na terapia anti-hipertensiva em ratos espontaneamente hipertensos. Além desta verificação, é também importante analisar os efeitos deste medicamento na hipertrofia ventricular esquerda desenvolvida nestes animais que ainda apresenta vários aspectos fisiopatológicos não totalmente esclarecidos.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1-HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA E HIPERTENSÃO.

Os miócitos cardíacos são células diferenciadas com reduzida capacidade de proliferação. No entanto, estas células adultas apresentam um aumento global de suas dimensões e de suas estruturas frente a situações especiais de estresse (FRANCHINI, 2001) que podem ocorrer na maioria das doenças que acometem o coração. Estabelece-se, assim, a hipertrofia que é considerada um fenômeno adaptativo às sobrecargas hemodinâmicas de volume e de pressão. Nestas condições, a hipertrofia miocárdica tem como substrato o aumento da quantidade de elementos ultraestruturais das células produzidos em decorrência da ativação da síntese proteica (WEBER; BRILHA, 1991).

Os mecanismos de sinalização envolvidos na hipertrofia cardíaca são colocados em ação na presença de lesões estruturais do coração e podem provocar a morte celular por necrose ou por apoptose. Estes mecanismos, diversos, podem ser de natureza bioquímica ou mecânica. Alguns deles estão envolvidos na ativação de receptores no sarcolema capazes de traduzir e amplificar sinais direcionados à hipertrofia envolvendo a participação de segundos mensageiros que funcionam como intermediários na comunicação entre os estímulos extracelulares e os fatores de transcrição específicos. Esta interação modifica a síntese proteíca e conduz à hipertrofia (FRANCHINI, 2002; SCHLUTER; WOLLERT, 2004 ; ROHINI et al, 2010).

A hipertrofia das células cardíacas ocorre por modificações no processo de síntese proteica. Os estímulos desencadeantes dependem de fatores hemodinâmicos que determinam estiramento mecânico das fibras miocárdicas, fatores ativadores de receptores alfa-1-adrenérgicos, da angiotensina II, da endotelina, da aldosterona e de receptores hormonais, dentre eles os do hormônio tireoideano e da insulina (BENJAMIN; LEVY, 1999).

A ativação de receptores envolvidos no processo de hipertrofia cardíaca determina aumento do influxo de íons sódio, cálcio e hidrogênio para a célula onde ocorre ativação da síntese de proteína G, produção de AMPc e o desencadeamento de uma série de cascatas e eventos bioquímicos que, por meio das modificações

nos mecanismo de transdução celular, geram mensagens para a produção de proteínas (SAMESINA; AMODEO, 2001).

2.2 HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA

Willian Osler (1892) descreveu em seu livro: *Principles and Practice of Medicine*, as três fases evolutivas da insuficiência cardíaca. Conforme esta descrição clássica, primeiro ocorre o desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda; a seguir estabelece-se a fase de compensação, durante a qual o coração, mesmo com a sua estrutura modificada, consegue ainda manter um fluxo sanguíneo tecidual adequado às necessidades metabólicas teciduais; por fim, ocorre a descompensação com o coração hipertrofiado, dilatado e insuficiente (SAMESINA; AMODEO, 2001).

As alterações estruturais, funcionais e metabólicas do coração que conduzem à hipertrofia incluem modificação do metabolismo energético, aumento de volume dos miócitos cardíacos, fibrose extracelular e aumento na espessura da parede das artérias coronárias (ISOYAMA, 1998; OPIE, 2006).

A HVE está diretamente relacionada à elevação dos níveis de pressão arterial. A sobrecarga mecânica imposta cronicamente ao coração pela HAS resulta em aumento da massa ventricular devido ao incremento da pós-carga ventricular. Este fato é produzido pela multiplicação em paralelo do número de miofibrilas, de expansão da massa mitocondrial e aumento da matriz extracelular de colágeno. Estas modificações conduzem à redução do diâmetro da cavidade do ventrículo esquerdo e redução do estresse parietal, conforme previsto na lei de Laplace (BRAUNWALD, 1981).

Para ocorrer a hipertrofia são ativados mecanismos adaptativos neuro-humorais, alguns dos quais resultam em incremento da estimulação adrenérgica do coração, com aumento da frequência cardíaca e da contratilidade miocárdica. A estimulação adrenérgica também ativa o sistema renina-angiotensina-aldosterona determinando aumento da vasoconstricção periférica e expansão do volume circulante com

aumento da sobrecarga imposta ao coração. O aumento excessivo da pós-carga ventricular decorrente da vasoconstrição periférica, bem como a elevação da frequência cardíaca, promovem aumento do consumo de oxigênio miocárdico e do trabalho cardíaco. Os efeitos tóxicos das catecolaminas sobre o coração aumentam o risco de arritmias cardíacas e de morte súbita (BRAUNWALD; BRISTOW, 2000).

Vários elementos fisiopatológicos estão associados à hipertrofia ventricular decorrente da HAS e sua importância e intensidade são variáveis de conformidade com o estágio evolutivo da doença. Dentre estes elementos destacam-se a isquemia relativa e o depósito de colágeno com fibrose ventricular. Estes fatores pioram tanto o desempenho sistólico como o diastólico do ventrículo esquerdo e podem precipitar o desenvolvimento da insuficiência cardíaca em pacientes hipertensos (BRAUNWALD; BRISTOW, 2000).

Considerando-se alguns padrões geométricos de adaptação do VE, a hipertrofia pode ser classificada em concêntrica, quando há aumento da massa e da espessura das paredes, e excêntrica, quando existe aumento da massa e da cavidade ventricular com espessura da parede normal.

A HVE concêntrica está diretamente relacionada aos níveis de pressão arterial e a forma excêntrica associa-se à obesidade e/ou à elevada carga de volume como ocorre nas insuficiências valvares e nas cardiomiopatias.

O diagnóstico da hipertrofia ventricular esquerda *in vivo* pode ser feita pelo eletrocardiograma e, de forma mais precisa, pelo ecocardiograma, especialmente útil para o acompanhamento da evolução da cardiopatia hipertensiva (ROMANO; MACIEL, 2008).

2.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS BLOQUEADORES BETA-ADRENÉRGICOS

O sistema nervoso simpático é um importante alvo no tratamento da HAS por ser uma das vias envolvidas na fisiopatologia desta doença atuando tanto pelos efeitos sobre o coração e vasos quanto pelas interações com o sistema renina-angiotensina-aldosterona (WEIR, 2009). A redução da pressão por meio do uso dos bloqueadores beta-adrenérgicos ocorre de forma complexa e os mecanismos

envolvidos não são bem conhecidos. Apesar desta dificuldade, ações decorrentes do bloqueio dos receptores β_1 adrenérgicos cardíacos, causando redução da frequência cardíaca e da contratilidade miocárdica com queda do débito cardíaco, e nas células justaglomerulares renais, diminuindo a liberação de renina, parecem estar implicadas no efeito anti-hipertensivo verificado (HELPAND et al, 2007; BORTOLOTTO; CONSOLIM-COLOMBO, 2009).

Os bloqueadores beta-adrenérgicos (BBs) foram introduzidos para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica na década de 70. Esta classe farmacológica mostra grande atividade protetora para o coração e cérebro, sendo considerada a terapêutica mais eficaz na redução da mortalidade cardiovascular.(YUSUF et al, 1985; MANCIA et al , 2007; CHOBANIAN et al , 2003)

Ao longo dos anos os BBs foram sendo aprimorados e são classificados como de primeira geração (propanolol), de segunda (atenolol) e, finalmente, os de terceira geração (carvedilol, nebivolol, entre outros). As moléculas mais recentemente sintetizadas possuem características de ação farmacológica diferentes em relação às mais consagradas pelo uso clínico, incluindo efeitos adicionais como o bloqueio dos receptores α_1 (carvedilol) e melhor regulação da função endotelial (MERSSERLI; GROSSMAN, 2004).

As ações dos BBs no sistema cardiovascular provocam inibição das respostas cronotrópicas, inotrópicas e vasoconstritoras derivadas da ação das catecolaminas (epinefrina e noroepinefrina) nos receptores adrenérgicos (HELPAND et al, 2007).

Na redução da PA, além do bloqueio adrenérgico promovido pelos BBs, outros mecanismos que decorrem da redução do débito cardíaco e da inibição do eixo renina-angiotensina-aldosterona estão envolvidos, como já mencionado acima.

Com relação à hipertrofia cardíaca, o efeito das catecolaminas sobre os cardiomiócitos é mediado por receptores alfa e beta os quais pertencem à superfamília dos receptores acoplados às proteínas da membrana celular. A estimulação crônica dos receptores β afeta múltiplas funções celulares, incluindo a transcrição gênica, o crescimento celular e a morte celular (XIAO et al, 1999).

Existem três subtipos de receptores beta (beta-1, beta-2 e beta-3), ligados às proteínas Gs que, por sua vez, estão unidas à adenilato ciclase (CONSULIM-

COLOMBO; FIORINO, 2005). No miocárdio normal, cerca de 80% dos receptores são do subtipo beta-1 e sua estimulação regula a atividade da adenilato ciclase via proteínas Gs, aumentando a concentração intracelular de monofasto de adenosina cíclico (AMPc), responsável pela maioria dos efeitos da hiperatividade adrenérgica (BRISTOW et al, 1982).

Dentre as funções dos receptores β_1 estão a de promover aumento do débito cardíaco por aumento da frequência cardíaca e do volume ejetado em cada batimento, induzir a liberação de renina nas células justaglomerulares e provocar lipólise.

Os receptores β_2 são polimórficos e predominam nos músculos lisos. Sua estimulação causa relaxamento visceral. Os receptores β_3 têm efeitos metabólicos com ações específicas, incluindo a lipólise no tecido adiposo (BORTOLOTTO; CONSOLIM-COLOMBO, 2009)

Os bloqueadores beta-adrenérgicos não são idênticos em suas ações e este comportamento diversificado ocorre devido às diferenças no grau de seletividade da ação, na solubilidade da molécula, nas vias e na velocidade de eliminação e nas variações no seu metabolismo.

Os BBs são considerados cardiosseletivos quando o bloqueio induzido em doses farmacológicas ocorre preferencialmente sobre os receptores β_1 encontrados no coração (HELPAND et al, 2007). A maioria dos BBs, no entanto, não apresentam esta seletividade bloqueando também outros receptores adrenérgicos (BORTOLOTTO; CONSOLIM-COLOMBO, 2009).

A solubilidade em lipídios e em água de cada medicamento determina sua biodisponibilidade. Dependendo desta solubilidade, o BB pode atravessar a barreira hematoencefálica e produzir efeitos sobre o sistema nervoso central (CHE et al, 2009).

O metabolismo e a eliminação dos BBs dependem das vias metabólicas dos medicamentos e de suas vias de excreção. Alguns deles são excretados pelos rins tornando necessária a correção de dose quando o paciente tem insuficiência renal. Outros, como o carvedilol, são de metabolismo primariamente hepático (SICA; BLACK, 2008).

Outras ações adicionais dos bloqueadores beta-adrenérgicos no tratamento da HAS são a redução do consumo de oxigênio pelo miocárdio, melhora da função diastólica ventricular, aumento do fluxo coronariano e redução da isquemia, das arritmias ventriculares e da morte súbita (NETO et al, 2006).

2.4 CARVEDILOL

O carvedilol foi liberado para o tratamento de pacientes com hipertensão arterial e insuficiência cardíaca congestiva em 1995. É um bloqueador beta adrenérgico não seletivo, com atividade adicional de bloqueio do receptor α_1 e propriedades antioxidantes (DANDONA et al, 2007), anti-inflamatórias, antiarrítmicas e antiapoptóticas. Apresenta ainda ações que afetam uma variedade de correntes iônicas, incluindo as do sódio, potássio e cálcio (CELIK et al, 2008). Sua utilização proporciona acentuada melhora na perfusão tecidual (CALO et al, 2005; NACCARELLI; LUKAS, 2005).

Vários mecanismos têm sido explorados afim de explicar a ação antioxidante do carvedilol e de seus metabólitos. Dentre esses são evidenciados o sequestro dos íons ferro, a produção do radical hidroxila (OH) e também o sequestro de radicais livres de oxigênio. Apesar destas possibilidades, o mecanismo desta ação ainda não está completamente elucidado (YUE et al, 1992; NOGUCHI et al, 2000; DANDONA et al, 2007).

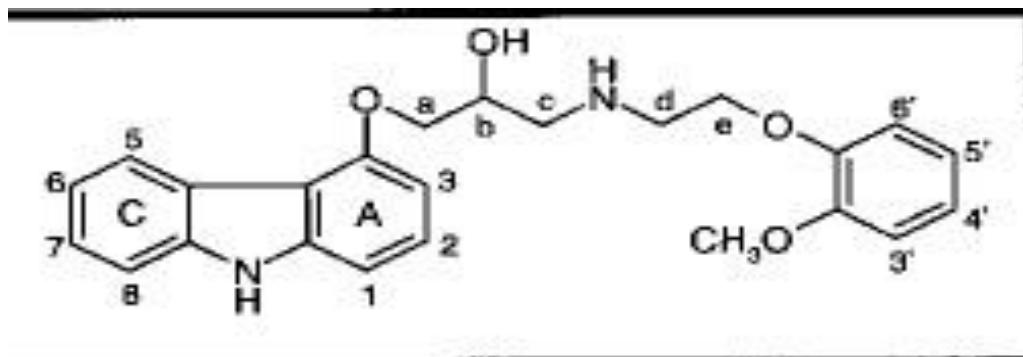


Figura 1: Estrutura molecular do carvedilol (SHAEFER et al, 1998)

A figura 1 mostra a molécula do carvedilol destacando-se nela a porção carbazol, sua principal característica estrutural, e que o diferencia dos outros bloqueadores beta-adrenérgicos. Hidroxilações nas posições 2, 6 e 8 do carbazol aumentam a atividade antioxidante de 10 a 40 vezes. Dentre os vários metabólitos originados pelo metabolismo do carvedilol, o 1-[3-hidroxicarbazolil-(4)-oxi]-3-(2 metoxifenixetil) aminopropanol-(2) surge pela introdução de uma hidroxila no grupo carbazol. Este metabólito mostra uma potente atividade antioxidante em concentrações aproximadamente 30 vezes inferiores às do carvedilol (ABREU et al, 2000; YUE et al, 1992)

Em estudos clínicos para o tratamento da HAS demonstrou-se que o carvedilol, na dose de 25 mg/dia, durante 8 semanas, produz uma redução média de 15 mmHg na pressão sistólica e diastólica (PLAVNIK, 2008). Este autor demonstrou que o carvedilol apresenta efeitos favoráveis sobre a função do ventrículo esquerdo e preserva o fluxo sanguíneo renal com redução aproximada de 13% na resistência vascular deste órgão (DUPONT et al, 1987).

Em pacientes portadores de HAS crônica, o carvedilol promoveu reduções significativas na pressão média quando ministrado durante quatro semanas e sem causar aumentos nos níveis de creatinina (KOHNO et al, 1988). O carvedilol aumenta a sobrevida de pacientes com insuficiência cardíaca sistólica leve e grave e de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. Este medicamento demonstrou também resultados favoráveis na estabilidade do controle glicêmico, além de melhorar a sensibilidade periférica à insulina (WEBER et al, 2006).

2.5. MODELO ANIMAL PARA O ESTUDO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Um modelo animal experimental ideal para as pesquisas em hipertensão arterial sistêmica deve apresentar semelhanças anatômicas, hemodinâmicas e fisiológicas com o homem, além de reproduzir os efeitos sobre os órgãos-alvo de maneira similar ao quadro encontrado na clínica (BLAC et al, 2000).

Em 1963, Okamoto e Aoki selecionaram um novo modelo experimental de hipertensão arterial que não exigia interferência farmacológica, fisiológica ou cirúrgica para se atingir este fim. O animal surgiu do acasalamento de um animal Wistar Kyoto macho, com expressiva elevação de pressão arterial (PA), com uma fêmea com discreta elevação da PA. Para que a HAS seja transmitida é preciso ocorrer o cruzamento entre irmão x irmã dando origem a linhagem SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*).

Esses animais chegaram ao *National Institute of Health (NIH), EUA*, na F13 (13º geração) em 1966. A partir do NIH, em 1973, na F32, eles foram para o Charles River Laboratories que atualmente comercializam essa linhagem para todo o mundo (CRIVER,2010).

Os ratos SHR começam a desenvolver a elevação da PA com 4 a 5 semanas de vida, apresentam níveis de hipertensão entre 7-15 semanas, atingindo um platô entre a 20ª e 28ª semana. No período de 20 a 24 semanas, a pressão sistólica dos SHR está em torno de 190-200 mmHg e esta pode aumentar conforme a idade do animal.

O mecanismo de produção da hipertensão nesses animais não está definido, mas depende dos níveis de íons sódio ou cloreto na dieta, podendo existir maior ativação do sistema renina-angiotensina que pode ser um fator desencadeante da hipertensão espontânea (FLISER et al, 1998).

MCGIFF; QUILLLEY (1981) demonstraram diferenças fundamentais entre os determinantes genéticos da hipertensão essencial e a do modelo SHR, o que gera diferença nos mecanismos de resposta bioquímica. Este aspecto pode ser exemplificado pela ação da prostaglandina E2 que é um potente vasodilatador em várias espécies.

A vinculação do fenótipo hipertensivo com o gene *Sa* localizado no cromossomo 1 do rato, numa região ligada à HAS e que tem uma expressão aumentada nos rins dos SHR, vem sendo apontada mas persistem aspectos controversos (NABIKA, 1999; LEZIN et al, 2000).

O desenvolvimento de lesões sobre os órgãos-alvo em modelos experimentais de HAS é importante para que o processo possa ser melhor

estudado. Os SHR desenvolvem muitas destas lesões que incluem hipertrofia do músculo cardíaco, insuficiência cardíaca e disfunção renal. De acordo com FROLICH (1986), a semelhança entre a hipertensão essencial humana e a do rato espontaneamente hipertenso baseia-se na existência de elevação da resistência periférica total com constrição arteriolar e venular, no aspecto progressivo da doença vascular e renal e nos mecanismos fisiopatológicos similares presentes nestas duas condições.

Estes aspectos evidenciam que, mesmo não sendo totalmente conhecida a causa da hipertensão no modelo SHR, estes animais podem ser utilizados na tentativa de se elucidar vários aspectos fisiopatológicos da HAS.

2.6- JUSTIFICATIVA

A hipertrofia cardíaca é uma resposta adaptativa do coração a diferentes situações de estresse e, dentre esses, cita-se aquele causado pela hipertensão arterial sistêmica. Quando, na história natural da HAS, instala-se a hipertrofia ventricular esquerda, o risco para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca sistólica e diastólica aumenta consideravelmente. Os mecanismos envolvidos nesta hipertrofia precisam ser conhecidos para que alternativas terapêuticas a ela dirigidos possam, além de controlar a HAS, também modulá-la ou revertê-la na tentativa de, assim, reduzir a progressão para a insuficiência cardíaca.

O carvedilol, com efeito bloqueador alfa e beta adrenérgicos, pode ser utilizado no tratamento da HAS com ou sem HVE. Apesar disso, são escassos os estudos referentes ao efeito deste medicamento nos modelos de hipertrofia cardíaca produzidos pela HAS.

A existência de um modelo experimental representado pelos SHR, com todos os aspectos discutidos anteriormente, permite este tipo de abordagem experimental e foi utilizado neste estudo com o intuito de se averiguar o resultado do bloqueio adrenérgico induzido pelo carvedilol na HVE e na HAS.

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar as características do modelo de hipertrofia ventricular esquerda em ratos espontaneamente hipertensos e o efeito do bloqueio adrenérgico induzido pelo carvedilol nesta hipertrofia.

3.2 Objetivos Específicos

Analizar o comportamento da pressão arterial e da frequência cardíaca na presença de carvedilol.

Avaliar a ação do carvedilol na hipertrofia cardíaca e ventricular esquerda utilizando-se, como parâmetros de análise, o peso do coração, do ventrículo esquerdo, a medida do diâmetro transversal dos cardiomiócitos e o teor de colágeno no VE de ratos espontaneamente hipertensos.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 28 ratos adultos, machos, sendo 14 da linhagem SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) e 14 da linhagem Wistar, provenientes do biotério da Universidade Federal de Uberlândia-MG. Todos foram confinados no LEA (Laboratório de Experimentação Animal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), separados por grupos em gaiolas plásticas com grade de metal de 100x50x30cm e identificados individualmente.

Os animais receberam água e ração balanceada à vontade e foram examinados quanto ao seu estado de saúde. A higienização das gaiolas, a troca de água e a reposição de ração foram realizadas diariamente.

Os animais utilizados no experimento tinham peso de 200 a 250g. Nesta fase os animais tinham em torno de 22 semanas de vida e a pressão arterial já se encontrava estabilizada.

4.2 Grupos

- Catorze ratos Wistar foram divididos randomicamente em dois grupos conforme o tratamento dispensado e descrito abaixo:

- Grupo I- (N-C)

Foram alocados sete animais identificados e numerados, que receberam diariamente água por gavagem, no mesmo volume utilizado na administração do carvedilol, durante quatro semanas.

Grupo IV- (N-M).

Composto por sete animais identificados e numerados, que receberam carvedilol por gavagem, na dose de 5 mg/kg/peso do animal diluídos em água, durante quatro semanas.

Catorze ratos SHR foram divididos, também randomicamente, em dois grupos conforme o tratamento dispensado e descrito abaixo:

- Grupo I- (SHR-M).

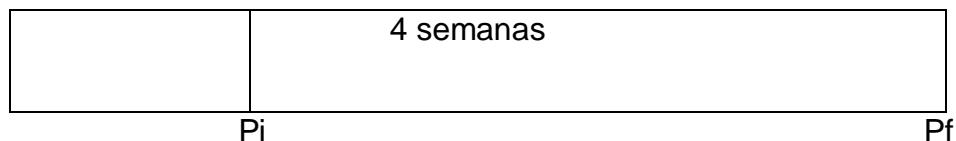
Composto por sete animais identificados e numerados, que receberam carvedilol por gavagem, na dose de 5mg/kg/peso do animal diluídos em água, durante quatro semanas.

- Grupo II- (SHR-C).

Foram alocados sete animais identificados e numerados, que receberam água por gavagem, no mesmo volume utilizado na diluição do carvedilol, durante quatro semanas.

Desenho esquemático do protocolo experimental desenvolvido neste estudo.

T= - 10 T=0



T= - 10 dias-período correspondente a adaptação dos animais no laboratório

T= 0 início do experimento

4 semanas=tempo de duração do experimento

Pi= inicio do experimento

- Pesagem do animal
- Aferição da PA

Pf= Final do experimento

- Pesagem dos animais
- Verificação da PA
- Verificação da FC
- Sacrifício dos animais para a extração do coração e preparação histológica

4.3. Procedimento Experimental

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa de Animais (CEUA - Protocolo nº 80/08 - anexo A).

No início do experimento os animais foram pesados e distribuídos randomicamente em quatro grupos. Os animais permaneceram 15 dias no laboratório para adaptação. Após este período foi iniciado o experimento com aferição da pressão arterial dos animais.

O medicamento foi ministrado via oral, pelo método de gavagem, na dose de 5 mg/kg/dia, diluídos em 15 ml de água sendo a dose ministrada sempre no período da manhã.

A duração do experimento foi de quatro semanas para todos os grupos, com sacrifício dos animais no final do experimento. A aferição da frequência cardíaca (FC) foi realizada através do registro obtido por plethysmografia na cauda do animal utilizando-se o aparelho Power Lab-AD Instruments. A vasodilatação periférica do animal necessária para a medida da PA foi conseguida com o aquecimento do animal.

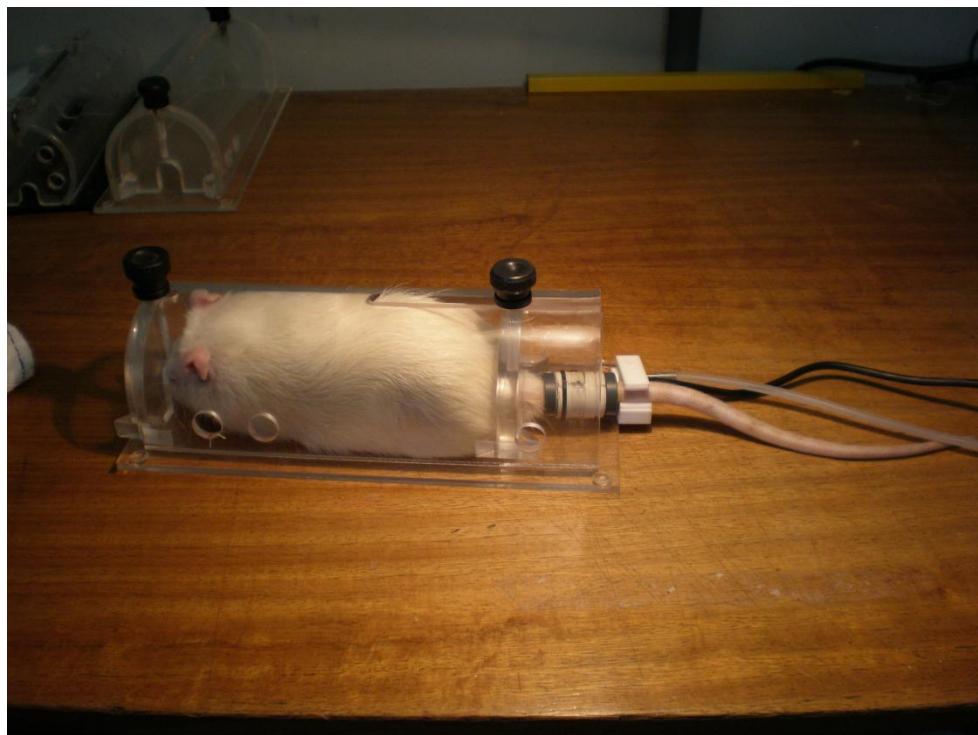


Figura 2- Animal preparado para aferição da PA pela pletsmografia de cauda.

Para aferição da PA sistólica por pletsmografia de cauda, o manguito foi insuflado até a pressão de pulso ficar nula. Ao ser desinsuflado, a representação gráfica dos primeiros picos de pulso foram visualizados na tela do computador e no mesmo instante foi registrada a pressão arterial sistólica e a frequência cardíaca, conforme demonstrado nas figuras 2, 3 e 4.

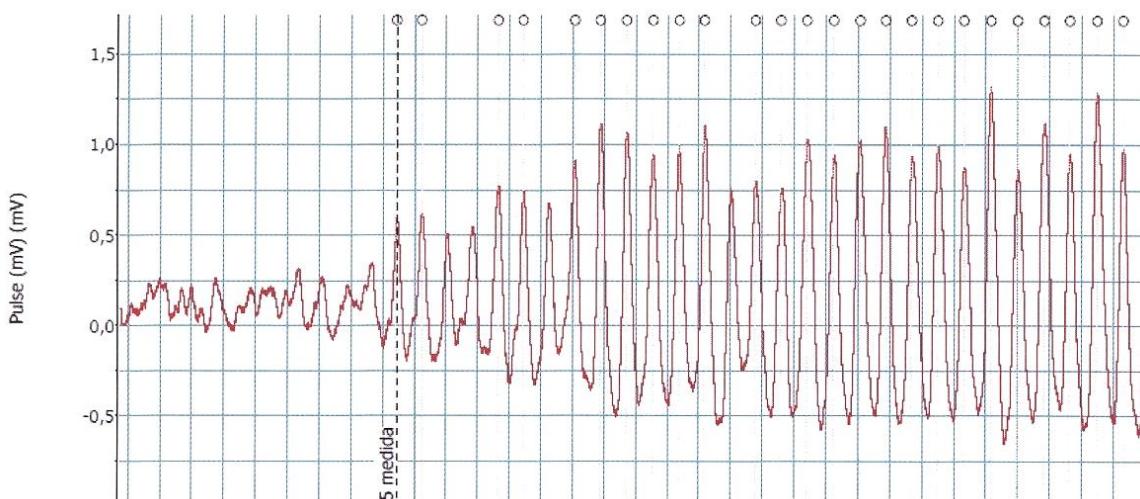


Figura 3: Pressão de pulso (mmHg) obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos

(---) Demarcação da primeira pressão de pulso após a artéria ser desobstruída.

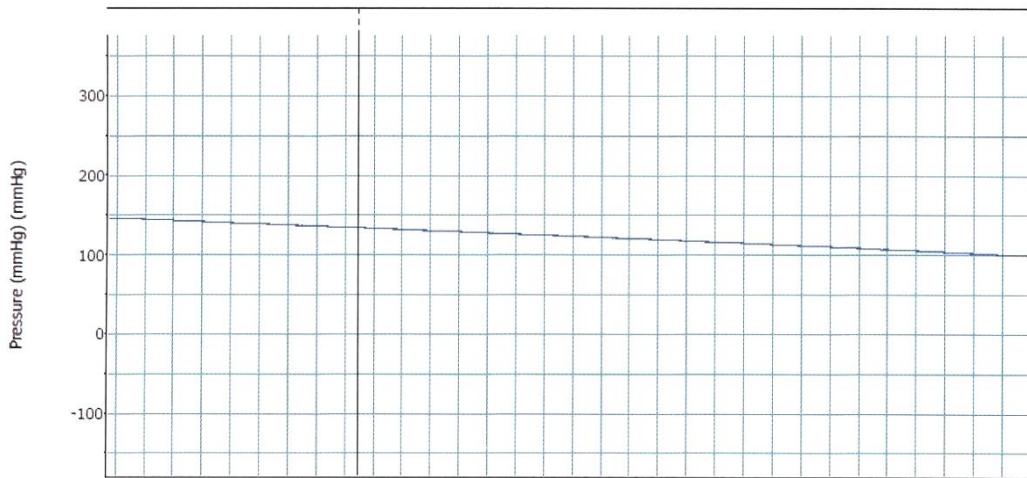


Figura 4: Pressão arterial média obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos.

(—) Demarcação da pressão arterial após a artéria ser desobstruída é compatível com a demarcação da pressão de pulso.

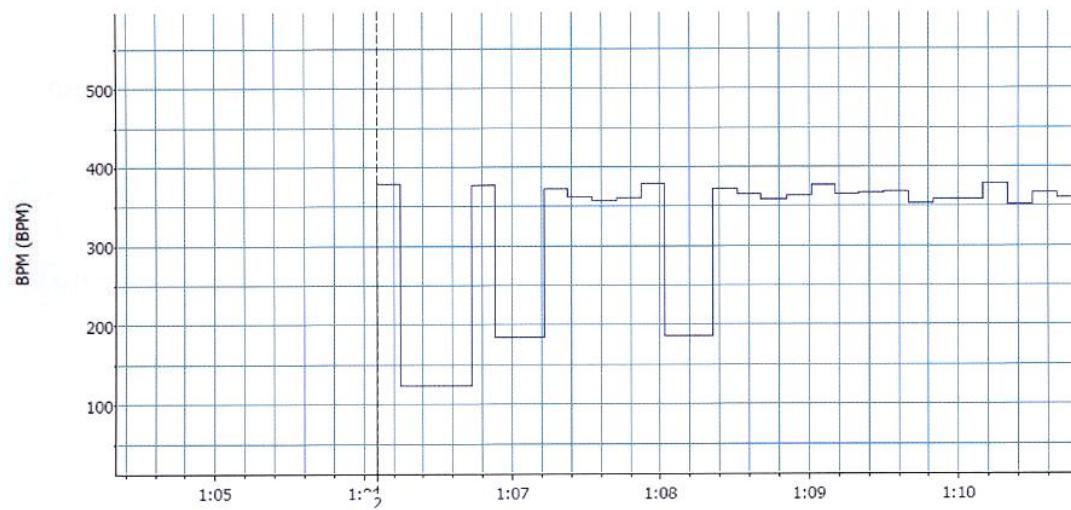


Figura 5: Frequência cardíaca em BPM obtida através da pletsmografia de cauda adaptada para ratos.

(---) Demarcação da frequência cardíaca após desinsuflação do manguito de cauda.

Para o registro da PAS e da FC foram realizadas quatro medidas consecutivas considerando-se como real a média dos valores obtidos. Estes procedimentos foram repetidos do início ao final do experimento.

Após o período de quatro semanas do experimento, os ratos foram anestesiados com cloridrato de xilazina a 10% e cetamina a 5%, nas doses de 0,1ml/100 g e 0,1ml/100g de peso do animal vivo, respectivamente. Após a anestesia procedeu-se à abertura do tórax e retirada do coração. O coração foi separado do pulmão, lavado exaustivamente com solução de soro e pesado com os átrios e os ventrículos. Após a separação dos átrios, os ventrículos foram fixados em formol a 10%. Depois de 72 horas nesta solução de formol foi feita a separação do ventrículo direito e pesado o ventrículo esquerdo juntamente com o septo interventricular utilizando-se balança de precisão.

A preparação histológica foi feita incluindo-se o material em parafina e, posteriormente, procedendo-se à hidratação (desparafinização), sendo, por fim, o material desidratado (diafanização) e corado em hematoxilina-eosina para as medidas das fibras musculares e em picrus sirius red para avaliação do teor de colágeno. O passo a passo de toda a preparação está disponível nos anexos B e C.

4.4 Análises microscópicas da fibra muscular cardíaca

Foram obtidos cinco cortes de cada ventrículo e medidos os menores diâmetros de cinco células cortadas perpendicularmente e identificadas em cinco campos microscópicos diferentes. É importante salientar que essas medidas foram realizadas sempre pelo mesmo observador e em condições que não permitiam a identificação prévia a qual grupo o corte pertencia. A medida dos diâmetros das células foi realizada utilizando-se imagens digitalizadas capturadas em microscópio binocular Olympus BX40 com objetiva de 40x, acoplada à câmera Olympus OLY-200 ligada a um computador através de placa digitalizadora Data Translation 3153. As mensurações foram realizadas utilizando o software HL Image (Western Vision).

4.5. Análise Estatística

Os dados obtidos durante o estudo foram analisados utilizando-se o teste t de Student pareado para a comparação das variáveis PC, FC e PA aferidas no início e final do experimento dentro do mesmo grupo. Para a comparação dos valores do peso do coração, do ventrículo esquerdo e diâmetros celulares entre os grupos, foi empregada a análise de variância (ANOVA) complementada pelo teste de Tukey. A comparação do teor de colágeno no ventrículo esquerdo nos diversos grupos foi feita pelo teste de Kruskall-Wallis. Foram considerados como significantes valores de $p < 0,05$.

5-RESULTADOS

5.1 Peso

O peso corporal dos animais dos diversos grupos no inicio do experimento foi estatisticamente semelhante. O peso final dos animais aumentou em relação ao do inicio em todos os grupos, mas foi menor nos SHR-C em comparação ao grupo N-C. Os resultados estão demonstrados na Tabela 1 e no Gráfico 1.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-C ($\bar{X} \pm DP$)	SHR-M ($\bar{X} \pm DP$)
PC Inicial (g)	224 \pm 12,53	223 \pm 14,29	204 \pm 25,15	223 \pm 14,69
PC Final (g)	323 \pm 25,75*	316 \pm 20,58*	260 \pm 35,40**/**	268 \pm 14,31*

Tabela1: Média e desvio padrão (DP) do peso corporal após quatro semanas de intervenção. O peso corporal final aumentou em todos os grupos em relação ao peso inicial mas foi menor no grupo SHR-C em relação ao N-C.

(*) $p<0,05$ -Teste t Student pareado (comparação antes e depois).

(**) $p<0,05$ - ANOVA (entre os grupos).

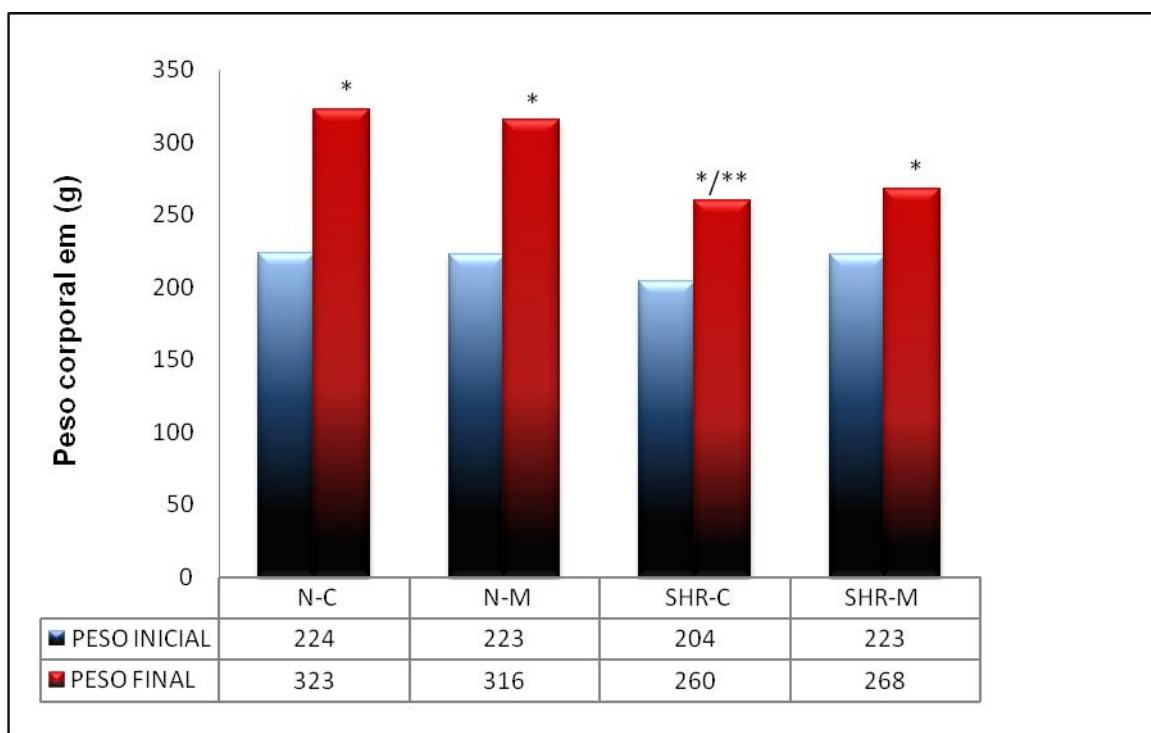


Gráfico 1. Peso corporal (PC) dos animais dos quatro grupos. O PC aumentou ao longo do experimento em todos os grupos. O PC final do SHR-C foi menor em relação ao N-C.

(*) $p < 0,05$ -Teste t Student pareado (comparação antes e depois)

(**) $p < 0,05$ - ANOVA-Tukey (entre os grupos)

Foi calculada a variação dos pesos dos animais ao longo do experimento. Os resultados da variação do PC está expressa na Tabela 2 e no Gráfico 2.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-C	SHR-M
Δ PC	43,72	41,92	27,44 **	20,31 **

Tabela 2: Variação média do peso corporal em gramas ao longo do experimento nos quatro grupos. A menor variação ocorreu nos animais SHR-M (**). A variação dos animais SHR-C(“) foi também menor em relação ao N-C.

(**) p<0,05-Teste de Kruskall Wallis, complementado pelo teste de Dunn

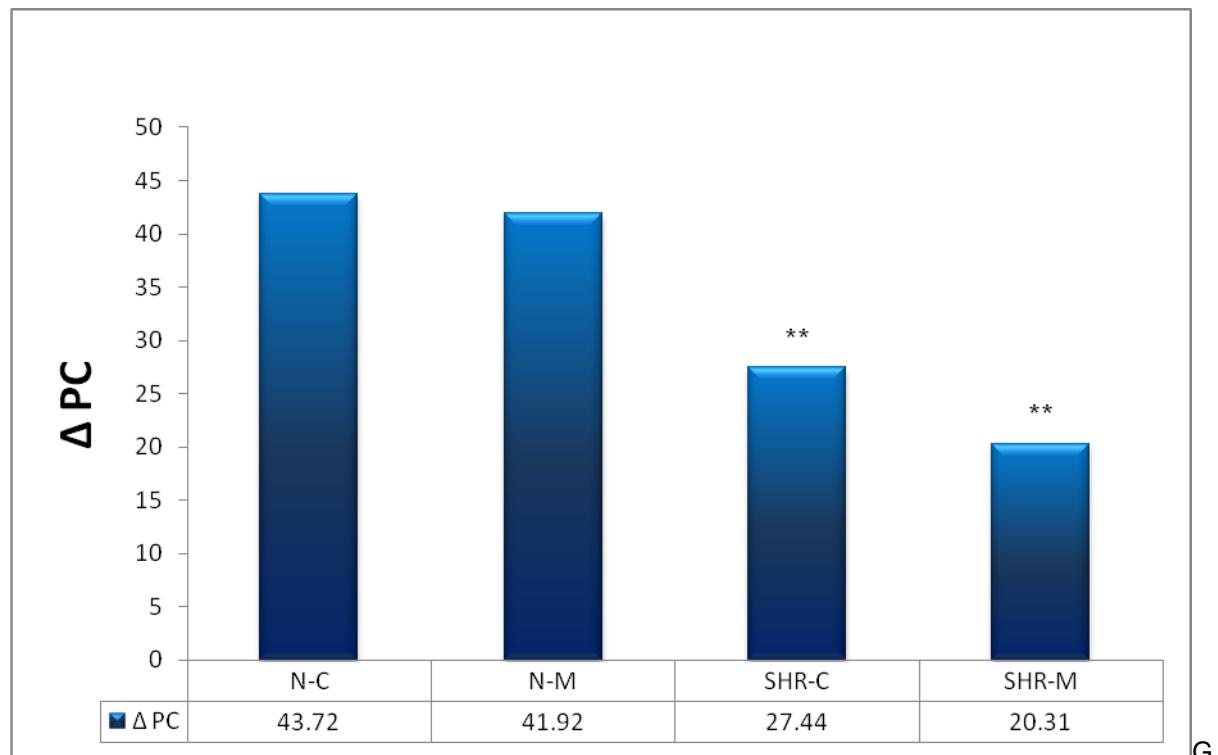


Gráfico 2: Variação do peso corporal em gramas ao longo do experimento nos quatro grupos. O menor ganho de peso ocorreu nos animais SHR-M (**). A variação do peso nos animais SHR-C(“) foi também menor em relação ao N-C.

(**) p<0,05-Teste de Kruskall Wallis, complementado pelo teste de Dunn

5.2 Pressão Arterial

Houve diferença na PAS inicial entre os grupos de animais de linhagens diferentes (SHR x Wistar). A PAS inicial nos animais SHR-M foi maior em relação aos demais grupos. O carvedilol não reduziu a PAS nos SHR e nos Normais (Tabela 3 e Gráfico 3).

GRUPOS	N-C ($\bar{X} \pm DP$)	N-M ($\bar{X} \pm DP$)	SHR-C($\bar{X} \pm DP$)	SHR-M ($\bar{X} \pm DP$)
PAS Inicial	116±8	111±12	165 ±28**	172 ±20**
PAS Final	105±10	117±9	177±10*/**	179±25*/**

Tabela 3. Média e desvio padrão (DP) da pressão arterial sistólica em mmHg antes e após quatro semanas de intervenção nos quatro grupos. Houve diferença significativa, com a PAS mais elevada nos grupos SHR do que nos Normais, tanto no inicio como no final da intervenção.

(*) $p<0,05$ -Teste t de Student (comparação antes e depois)

(**) ANOVA (comparação entre os grupos)

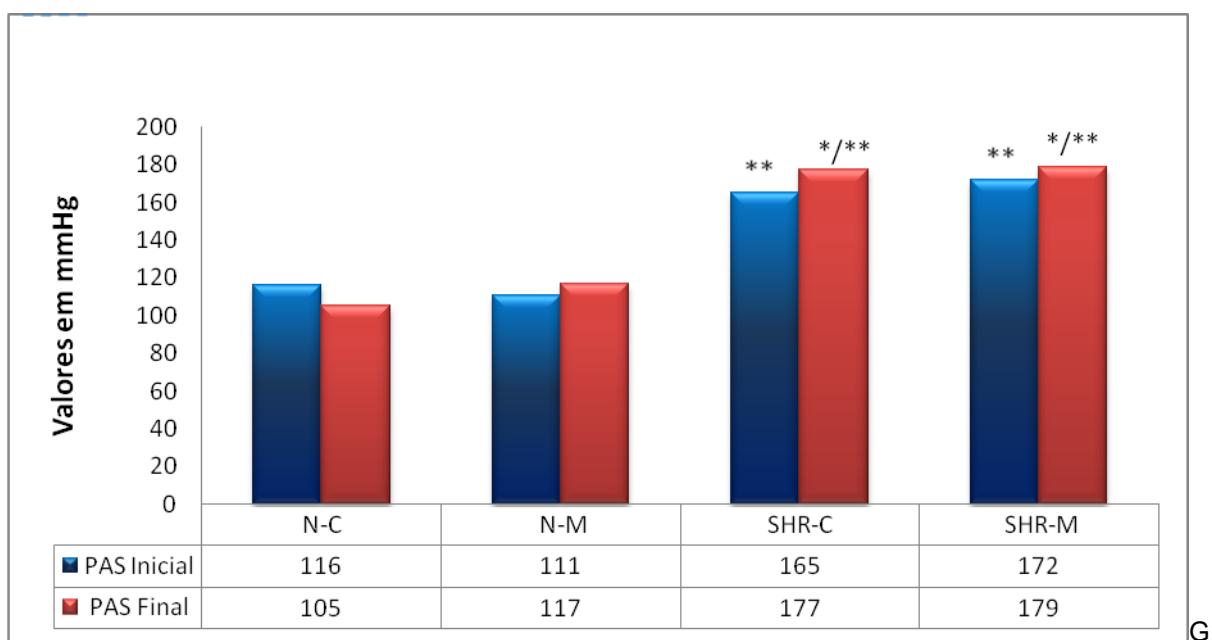


Gráfico 3. A PAS inicial dos SHR foi maior em relação aos grupos Normais; o mesmo ocorreu na PAS final.. Não houve diferença da PA final dos grupos N-C, N-M, SHR-M, SHR-C.

(*) $p<0,05$ -Teste t de Student (comparação antes e depois)

(**) ANOVA (comparação entre os grupos)

A variação média da pressão arterial sistólica ao longo do experimento nos quatro grupos está expressa na Tabela 4 e no Gráfico 4.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-C	SHR-M
ΔPA	-11	6	12	7

Tabela 4: Variação média da pressão arterial sistólica em mmHg nos quatro grupos expressa em %.
Teste de Kruskall Wallis – ns.

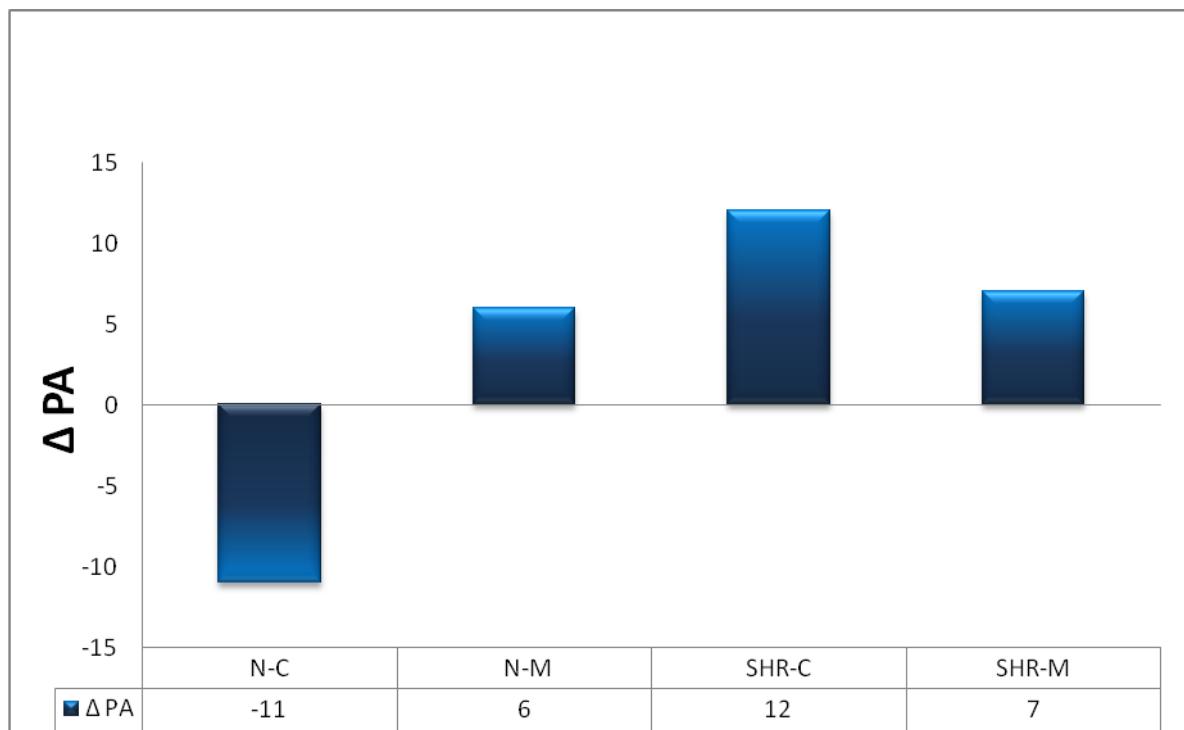


Gráfico 4: Variação média da pressão arterial sistólica em mmHg nos quatro grupo expressa em %.
Teste de Kruskall Wallis – ns.

5.3 Frequência Cardíaca

O FC inicial não apresentou diferença entre os grupos mas a FC final foi reduzida em todos os grupos ao final do experimento. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 5 e no Gráfico 5.

GRUPOS	N-C ($\bar{X} \pm DP$)	N-M ($\bar{X} \pm DP$)	SHR-C ($\bar{X} \pm DP$)	SHR-M ($\bar{X} \pm DP$)
FC Inicial	394 \pm 23	381 \pm 53	392 \pm 60	391 \pm 31
FC Final	338 \pm 16*	359 \pm 12*	369 \pm 17*	358 \pm 34*

Tabela 5. Média e o desvio padrão da frequência cardíaca em batimentos/minuto antes e após intervenção nos quatro grupos. Houve redução da FC em todos os grupos ao final do experimento. Não houve diferença estatística entre os grupos.

(*)p<0,05-Teste t de Student (comparação antes e depois)

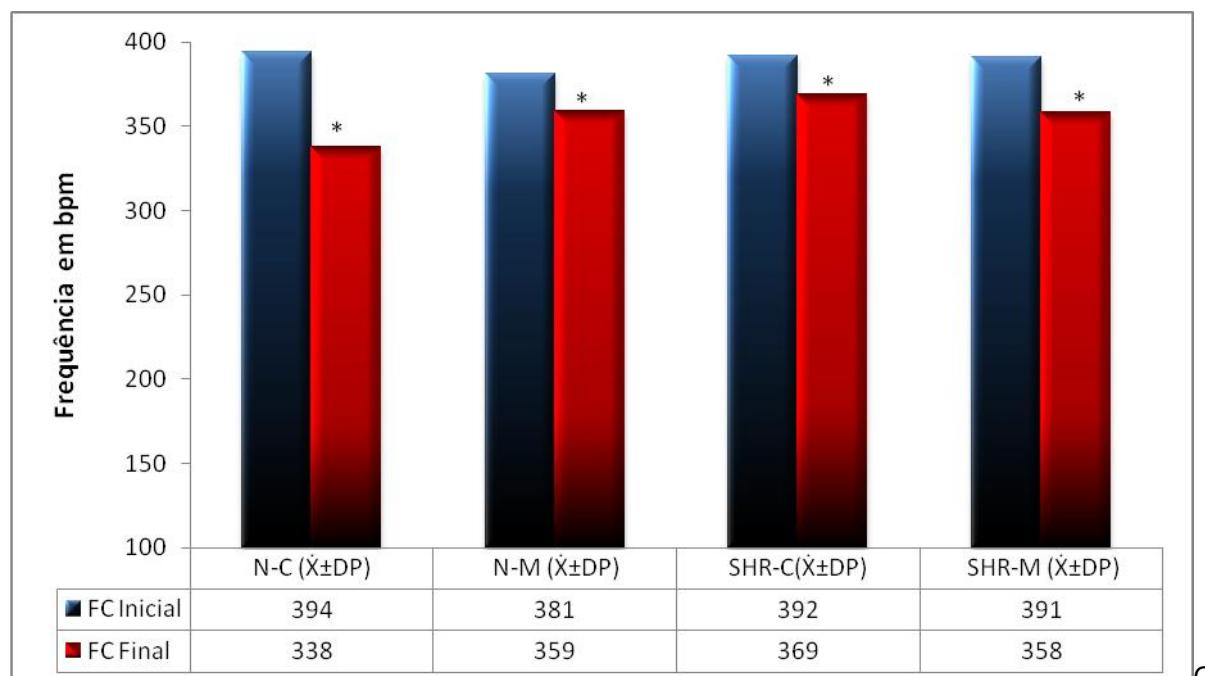


Gráfico 5. Média e desvio padrão da frequência cardíaca antes e após a intervenção. Não houve diferença significativa entre os grupos com redução da FC em todos eles no final do experimento.

(*)p<0,05-Teste t de Student (comparação antes e depois)

A análise da variação da frequência cardíaca está representada na Tabela 6 e no Gráfico 6.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-C	SHR-M
ΔFC	-13,79	-13,23	-18,24	-12,40

Tabela 6: Variação média da frequência cardíaca em batimentos/minuto nos quatro grupos. Não houve diferença entre os grupos.

Teste de Kruskall Wallis – ns.

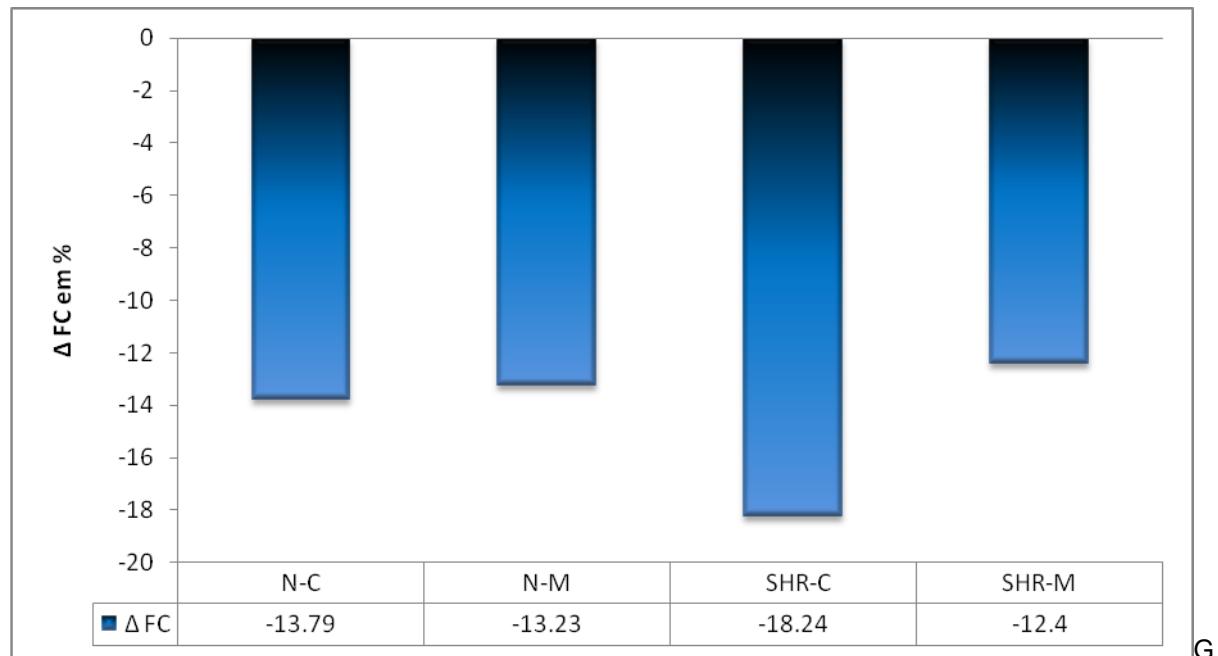


Gráfico 6: Variação média da frequência cardíaca em batimentos/minuto nos quatro grupos. Não houve diferença entre os grupos.

Teste de Kruskall-Wallis – ns.

5.4 Peso do coração e do ventrículo esquerdo com o septo interventricular

O peso do coração e do ventrículo esquerdo em gramas estão demonstrados na Tabela 7 e no Gráfico 7. Não houve diferença quanto ao peso do coração em nenhum dos grupos estudados; O peso do VE foi maior nos animais SHR-C em comparação com o N-C e maior no SHR-M em relação ao N-M.

GRUPOS	N-C($\bar{X} \pm DP$)	N-M ($\bar{X} \pm DP$)	SHR-C($\bar{X} \pm DP$)	SHR-M ($\bar{X} \pm DP$)
Coração total (g)	1,72 \pm 0,32	1,73 \pm 0,12	1,95 \pm 0,23	1,92 \pm 0,19
Peso do Ve (g)	0,73 \pm 0,10	0,75 \pm 0,05	0,86 \pm 0,06**	0,87 \pm 0,08**

Tabela 7-Média e desvio padrão dos pesos do coração e do ventrículo esquerdo com o septo interventricular, em gramas, antes e após a intervenção. O peso do VE foi maior no SHR-C em relação ao N-C e maior no SHR-M em comparação ao N-M. Não houve diferença entre os grupos em relação ao peso do coração.

(*) $p<0,05$ – ANOVA (comparação entre os grupos)

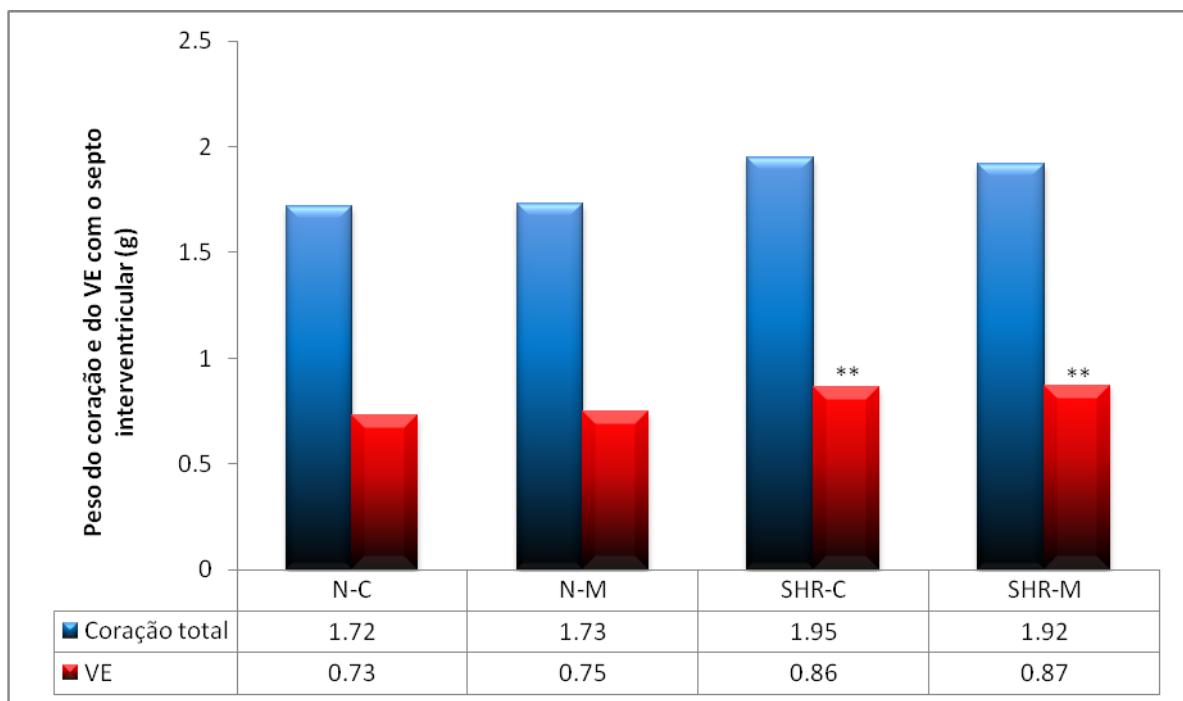


Gráfico 7- Peso do coração e do ventrículo esquerdo em gramas nos quatro grupos. O peso do VE foi maior no SHR-C em relação ao N-C e maior no SHR-M em comparação ao N-M. Não houve diferença entre os grupos em relação ao peso do coração.

(*) $p<0,05$ – ANOVA (comparação entre os grupos)

5.5 Diâmetro das fibras musculares ventriculares

O diâmetro transversal dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo foram maiores nos grupos SHR-M e SHR-C e não houve modificação quando se utilizou o carvedilol. Os resultados das medidas estão apresentados na Tabela 8 e no Gráfico 8.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-C	SHR-M
Cardiomiócitos	12,33	12,43	13,12**	13,42**

Tabela 8- Média dos diâmetros dos cardiomiócitos em micra(μ) nos quatro grupos. Os animais SHR, apresentaram maiores diâmetros das fibras em relação aos ratos normais.
 (**) p< 0,05-Teste de Kruskall Wallis

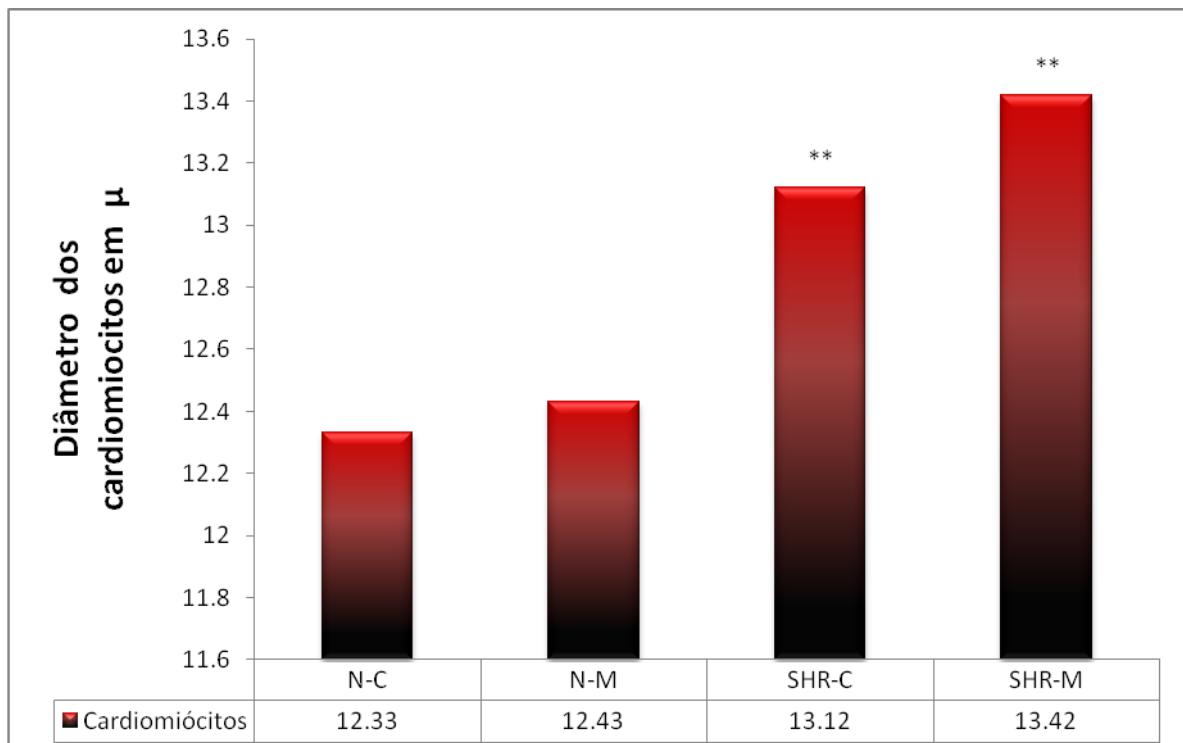


Gráfico 8- Média dos diâmetros dos cardiomiocitos em micra (μ) nos quatro grupos. Os maiores valores foram encontrados nos animais SHR-M e SHR-C em relação aos N-M e N-C. Não houve diferença entre os N com ou sem carvedilol.

(**) p<0,05 Teste de Kruskall Wallis

A quantificação de colágeno no ventrículo esquerdo não mostrou diferença estatisticamente significante entre os grupos. Os resultados em percentagem estão ilustrados na Tabela 9.

GRUPOS	N-C	N-M	SHR-M	SHR-C
COLÁGENO (%)	27,14	35,49	28,45	26,00

Tabela 9: Percentagem de colágeno no ventrículo esquerdo nos quatro grupos.
 Kruskall-Wallis - ns

6.DISCUSSÃO

Existem vários modelos experimentais utilizados para o estudo da hipertrofia cardíaca e, em cada um deles, diferentes vias hipertróficas foram identificadas e muitas são pouco conhecidas (FERNANDES, 2001; LOPES, 2010). Em 1963, Okamoto e Aori selecionaram a linhagem Wistar SHR com o intuito de utilizá-la como um modelo de estudo da hipertensão arterial e da hipertrofia cardíaca dela decorrente (OKAMATO; AORI, 1963). Mesmo decorridos quase cinquenta anos, múltiplos aspectos desta hipertrofia do modelo SHR permanecem desconhecidos.

No presente estudo, o bloqueio adrenérgico múltiplo induzido pelo carvedilol no padrão de hipertrofia de ratos SHR foi analisado. Os bloqueadores beta-adrenérgicos são usados como agentes anti-hipertensivos particularmente em situações nas quais predomina a estimulação simpática, como está descrito em diferentes estudos (STAFYLAS; SARAFIDIS, 2008; SBC, 2010). Esta classe de medicamentos ao atuar nos receptores beta-adrenérgicos produz efeitos no sistema cardiovascular que inibem as respostas cronotrópicas, inotrópicas e vasoconstritoras decorrentes da ação de catecolaminas (BORTOLOTTO; CONSOLIM-COLOMBO, 2009).

Analizando-se inicialmente algumas características do modelo experimental utilizado pode-se notar que os animais utilizados no experimento apresentaram boa tolerância aos procedimentos, tanto os da linhagem SHR, como os Wistar normais. Todos os animais ganharam peso no final do experimento, embora os SHR tenham atingido peso menor em relação aos Wistar normais. Este menor ganho de peso tem sido atribuído ao metabolismo aparentemente mais elevado nos animais SHR (OKAMOTO E AORI, 1963).

As ações do carvedilol no modelo SHR, utilizado no presente estudo, propicia diferentes análises. Em primeiro lugar, o medicamento na dose utilizada de 5mg/kg de peso não exerceu qualquer efeito hipotensor nos animais Wistar normais ou nos SHR. Outros estudos similares também verificaram que o carvedilol isoladamente é menos eficaz do que quando combinado com o captopril na redução da pressão arterial sistêmica em ratos SHR (Jovanovic et.al, 2009). Se o bloqueio adrenérgico múltiplo (α_1 , β_1 e β_2) não interfere na HA dos animais SHR, o contrário foi observado em outros experimentos quando o bloqueio foi feito sobre os receptores de angiotensina II. Corroborando estes resultados, Abdulla et.al (2009), também

utilizando ratos SHR, demonstraram que o carvedilol, administrado por via oral na dose de 5mg/kg, por uma semana, não reduziu a PA, fato que ocorreu quando o Losartan foi utilizado durante o mesmo tempo de observação.

A dose de carvedilol empregada no presente experimento pode ter sido responsável pela ausência de resposta hipotensora. Hanada et.al (2008) utilizando um modelo de hipertrófia de VE induzida pelo isoproterenol também não encontraram redução da PA quando a mesma dose de 5mg/kg foi utilizada. Embora sejam modelos muito diferentes, este fato levanta a necessidade de novos estudos que testem doses mais elevadas de carvedilol no modelo SHR para que a hipótese do envolvimento de catecolaminas na hipertrófia cardíaca e na hipertensão seja descartada.

Outra questão a ser analisada diz respeito ao tempo de tratamento utilizado. Barone et.al (2007) relataram que o tratamento mais prolongado com o carvedilol, por 18 semanas, também não foi capaz de reduzir a PA. Esta ausência de resposta hipotensora em esquemas mais prolongados parece indicar que o tratamento da pressão elevada no modelo SHR não depende do tempo de tratamento e que a participação de catecolaminas na hipertensão destes animais seja pouco provável.

A FC foi reduzida no final do experimento em todos os grupos estudados, mas não houve acentuação desta queda quando o animal recebia o medicamento. Outros estudos encontraram redução da FC utilizando doses mais elevadas de carvedilol em ratos não SHR (WEBER, 2006). A redução da frequência cardíaca também presente nos animais que não receberam carvedilol pode ser explicada pela redução da atividade vagal em relação à atividade simpática. Este comportamento da FC tem sido correlacionado à idade dos animais (GAVA et al, 1995; MEDEIROS et al 2004).

Estes fatos citados parecem indicar que a via principal para a HA nos animais SHR não é aquela que envolve o sistema simpático embora não se possa descartar a hipótese de que o uso prolongado do carvedilol possa determinar sensibilização adicional de receptores α_1 -adrenérgicos, fato que reduziria a ação hipotensora do carvedilol (KUBO et al, 2001).

Para a verificação do efeito da inibição simpática promovida pelo carvedilol na HC no modelo SHR, utilizou-se o peso do coração e do VE, a medida do diâmetro transversal dos cardiomiócitos e a quantidade de colágeno do VE.

Os resultados obtidos no presente experimento indicam que o carvedilol não modificou o peso total do coração nos animais SHR e nos controles Wistar. Quando a análise é feita com o peso do VE verifica-se que os grupos SHR têm maior peso do que os Wistar.

Esta verificação permite pressupor que este efeito de aumento do peso limitado ao VE deve ocorrer com eventual fator compensador negativo nas demais estruturas do coração para que não seja refletido no peso total do coração. Não encontramos explicação satisfatória para este fato na literatura alcançada. Sabe-se, porém, que os bloqueadores beta-adrenérgicos têm repercussão direta sobre o remodelamento cardíaco evitando que os altos níveis de catecolaminas característicos da insuficiência cardíaca exerçam efeitos deletérios no tecido cardíaco, reduzindo, assim, o processo de apoptose e de hipertrofia (KAWAI et al,2004). Outros experimentos indicam que o carvedilol parece conduzir a uma leve redução da hipertrofia ventricular esquerda em ratos quando o método de aferição utilizado foi o ecocardiograma (Barone et al,2007)

Outra evidência referente à HC está no comportamento do diâmetro transversal dos cardiomiócitos ventriculares. Este é um método confiável e facilmente reproduzido (FERREIRA, 2001; FERNANDES, 2007; SANTOS, 2009; LOPES, 2010). Outra vez, os maiores diâmetros celulares foram encontrados nos grupos SHR-M e SHR-C. Também não encontramos relatos na literatura quanto a este fato que deve estar ligado ao maior peso do VE. A explicação para este comportamento não parece clara, mas é possível que o bloqueio adrenérgico múltiplo associado a outras ações do carvedilol possam preservar a estrutura dos cardiomiócitos reduzindo eventuais processos de degradação proteica decorrentes da atividade simpática ou dos processos oxidativos, ambos bloqueados pelo carvedilol.

Outro aspecto a ser comentado é a ausência de resposta do tecido colágeno do VE ao bloqueio adrenérgico. Os relatos quanto ao uso do carvedilol sobre a matriz de colágeno são escassos e pouco esclarecedores. Sabe-se que a fibrose está estreitamente vinculada à ação dos sistemas simpático e da renina-angiotensina-aldosterona e que o bloqueio beta-adrenérgico reduz a ativação destes dois sistemas (BARKI-HARRINGTON et al, 2003). Este fato pode sugerir a ação anti-fibrótica deste grupo de medicamentos. Outra vez, a ausência de resposta ao

carvedilol da matriz de colágeno nos animais SHR parece confirmar o fato que o sistema simpático não está hiperativo neste modelo experimental.

A ativação adrenérgica, via receptores beta-adrenérgicos, influencia a síntese de colágeno via liberação de fatores tróficos neuro-humorais, como a angiotensina II, fator de crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) e endotelina (MANABE et al, 2002). Barone et al (2007) verificaram que o carvedilol preserva a morfologia do tecido cardíaco e diminui os índices histopatológicos de lesão cardíaca e de remodelamento, identificando-se, assim, efeito cardioprotetor mesmo em baixas doses do medicamento. Esta afirmação parece ser corroborada pela melhora clínica e pela maior sobrevida detectadas quando o carvedilol é utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca (BARONE et al, 2007).

Finalmente, outros estudos utilizando diferentes doses e tempo de emprego mais prolongado do carvedilol devem ser realizados para que se possa elucidar algumas dúvidas que ainda persistem no modelo de HA e de hipertrofia ventricular esquerda dos animais SHR.

7-CONCLUSÃO

O carvedilol, na dose de 5mg/kg de peso em ratos SHR, não reduziu a PA e a FC. O peso total do coração não variou nos grupos estudados. O peso do VE e o diâmetro transversal dos cardiomiócitos foram maiores nos animais SHR. Não houve mudança no teor de colágeno do VE com o emprego do carvedilol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLA, M et al. Chronic treatment with losartan and carvedilol differentially modulates renal vascular responses to sympathomimetics compared to treatment with individual agents in normal wistar Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **Eur J Pharmacol.**, v.612, p.69-74, 2009.
- ABREU, R.M; SANTOS, D.J; MORENO, A.J. Effects of carvedilol and its analog bm-910228 on mitochondrial function and oxidative stress. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.29, n.3, p.1022-1030, 2000.
- ATKINS, F.L. et al. Modulation of left and right ventricular β -adrenergic receptors from spontaneously hypertensive rats with left ventricular hypertrophy and failure. **Hypertension** v.26, p.78-82, 1995.
- AYOBE, M.H.; TARAZI, R.S. Beta receptors and contractile reserve in left ventricular hypertrophy. **Hypertension**. v. 5, suppl 1, p.192-217, 1983.
- BARKI-HARRINGTON, L.; LUTRELL, L.M.; ROCKMAN, H.A. Dual inhibition of β adrenergic and angiotensin II receptor by a single antagonist: a functional role for receptor-receptor interaction In vivo. **Circulation**. v.108, n.13, p.161, 2003.
- BARONE, F.C et al. Carvedilol prevents and reverses hypertrophy-induced cardiac dysfunction. **Pharmacology**. v.80, p.166-176, 2007.
- BARROS, R.A et al. Renovascular hypertension alters the effects of exogenous calcium on cardiac inotropism without β -receptor changes. **J Am Coll Cardiol.** v.31, suppl C, p.153, 1998.
- BARROS, R.A; OKOSHI, M.P; CICOGNO, A.C. Via beta-adrenérgica em corações normais e hipertrofiados. **Arq Bras Cardiol.** v.72, v.5, p.641-648, 1999.
- BATISTA, M.C. TAVARES, A. Como diagnosticar e tratar hipertensão arterial. **RBM Cardiol**, v.57, n.12, 2000.
- BENJAMIN, E.J; LEVY, D. Why is left ventricular hypertrophy so predictive of morbidity and mortality ? **Am J Med Sci.** v.317, n.3, p.168-175, 1999.
- BLANC, J; LAMBERT, G; ELGHOZI, J.L. Endogenous rennin and related short-term blood pressure variability in the conscious rat. **Eur J Pharmacol.** v.14, n.2-3, p.311-20, 2000.
- BORTOLOTTO, L.A; CONSOLIM-COLOMBO, F.M. Betabloqueadores adrenérgicos. **Rev Bras Hipertens.** v.16, n.4, p. 215-220, 2009.
- BRANDÃO, A. P. Tratando a hipertensão arterial, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares-Adalat insight study. **RBM Cardiol**, v.2, n.5, p. 181-183, 2000.

BRAUNWALD, E. Heart Failure: pathophysiology and treatment. **Am Heart J.** v.102,n.3, p.486-90, 1981.

BRAUNWALD, E; BRISTOW, M.R. Congestive heart failure: fifty years of progress. **Circulation.** v.102, suppl 4, iv 14p, 2000.

BRISTOW, M.R et al. Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic receptor density in failure human hearts. **N Engl J Med.** v.307, n.2, p.205-211, 1982.

BRISTOW, M.R. Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure. **J Am Coll Cardiol.** v.22, suppl A, p.61-71, 1993.

BRUNTON, Laurence et al. **Goodman&Gilman: Manual de Farmacologia e Terapêutica.** 11. ed. São Paulo: Artmed, 2007

CALO,L.A.; SEMPLICINI, A; DAVIS, P.A. Antioxidant and antiinflammatory effect of carvedilol in mononuclear cells of hypertensive patients. **Am J Med.** v.118, n.2, p.201-202, 2005.

CELIK, T .et al. Beta-blockers for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery: carvedilol versus metoprolol. **Int J Cardiol.** v.135, n.3, p.393-396, 2008.

CERVONI, P. et al. A comparison of cardiac reactivity and β -adrenoreceptor number and affinity between aorta-coarcted hypertensive and normotensive rats. **J Pharmacol** v.74, p.517-523, 1981.

CESARINO, C.B et al. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto. **Arq Bras Cardiol.** v.91, n 2, p.31-35, 2008.

CHE,Q.I; SCHREIBER, M.J; RAFEY, M.A. Beta blockers for hypertension: are they going out of style?. **Clevel Clin J Med.** v.76,n.9, p.553-542, 2009.

CHOBANIAN, A.V et al. The seventh report of the joint national committee on prevention detection,evaluation, and treatment of high blood pressure. **JAMA.** v.289, n.19,p.2560-2571, 2003.

CONSOLIM-COLOMBO, F.M; FIORINO, P. Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial sistêmica-aspectos clínicos. **Rev Bras Hipertens.** v.12, n.4, p.251-255, 2005.

CONSOLIM-COLOMBO, F.M; VAGNER,R.A; MICHELINI, L.C. O simpático revisitado:uma nova visão para um antigo problema. **Rev Bras Hipertens.** v.11,n.2,p.44-51, 2008.

CORRÊA, T.D et al. Hipertensão Arterial Sistêmica: atualidades sobre sua epidemiologia, diagnóstico e tratamento. **Arq Med ABC.** v.31, n. 2, p-91-101, 2005.

CRIVER, 2007. Disponível em: <<http://www.criver.com>>. Acesso em 12 de novembro de 2010.

DANDONA, P; GHANIM, H; BROOKS,D.P. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. **J Hypertens.** v.25, n.4, p.731-741, 2007.

DUPONT,A.G et al. Effects of carvedilol on ambulatory blood pressure renal hemodynamics and cardiac function essential hypertension. **J Cardiovasc Pharmacol** .v.10, suppl 11, p.130-136, 1987.

FERNANDES, M.L.M.P; FERRO,E.A.V; BELLETTI,M.E; RESENDE,E.S. Efeitos da espironolactoma sobre as alterações miocárdicas induzidas pelo hormônio tireoideano em ratos. **Arq Bras Cardiol.**v.89,n.6,p.398-402, 2007.

FERREIRA, M.B. **Efeitos do metoprolol sobre as alterações histomorfológicas do miocardiócitos produzidos pelo hipertiroidismo experimental em ratos.** 1985.138f. **Dissertação (Mestrado em Clinica Médica)** – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2001.

FRANCHINI, K.G. Hipertrofia Cardiaca: mecanismos moleculares. **Rev Bras Hipertens.**v.8, p.125-142, 2001.

FRANCHINI, K.G. Mecanismos moleculares na hipertrofia cardíaca. **Hipertensão.** v.5, n.3, p.112-117, 2002.

FROHLICH, E.D. Is the spontaneously hypertension rat a model for human hypertension? **J Hypertens.** v.4, suppl 3, p.15-19, 1986.

GAVA, N.S et al. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension.**v.26,n.6,p.1129-1133,1995

HANADA,K et al. Comparison of pharmacodynamics between carvedilol and metoprolol in rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy:effects of carvedilol enantiomers. **Eur J Pharmacol.**v.598,p.194-200, 2008.

HELPAND M; PETERSON,K; DONA,T. **Drug class review on beta adrenergic blockers.** Oregon Health & Science University.Portland,Oregon, 2007.

ISOYAMA, S. **Coronary vasculature in hypertrophy.**In:Sheridan DJ (ed).Left ventricular hypertrophy.London:churchill .p.29-36, 1998.

JOVANOVIC, D et al. Effect of carvedilol on pulse pressure and left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats with adriamycin nephropathy. **Biomed Pharmacother.**v.63, p.71-576, 2009.

KAWAI, K et al. Importance of antioxidant and antiapoptotic effects of beta receptor blockers in heart failure therapy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v.287, n.3, p.1003-1012, 2004.

KOHNO, M et al. Therapeutic benefits and safety of carvedilol in the treatment of renal hypertension. An open,short term study.Carvedilol renal hypertension study group in japan.**Drugs.**v.36,suppl 6, p.129-135, 1988.

KUBO, T et al. Lack of evidence for peripheral alpha 1-adrenoreceptor blockade during long-term treatment of heart failure with carvedilol. **J Am Coll Cardiol.** v.38,n.5,p.1463-1464, 2001.

KUMANO, K; KHAIRALLAH,P.A. Adenylate cyclase activity during development and reversal of cardiac hypertrophy. **J Mol Cell Cardiol.** v.17, p.537-538, 1985.

LEZIN, S,T,E et al. Genetic Analysis of Rat Chromosome 1 and the SA gene in spontaneous hypertension. **Hypertension.** v.35, p.225-230, 2000.

LOPES, L.T.P. **Efeitos cardiovasculares do hipertireoidismo experimental do treinamento físico e de sua associação em ratos.** 2010. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

LORELL, B.H; CARABELLO, B.A. Left Ventricular hypertrophy: pathogenesis detection and prognosis. **Circulation.** v.102, p.470-479, 2000.

MANABE, I; SHINDO,T; NAGAI,R. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: Involvement in cardiac hypertrophy. **Circulation Research.** v.91, n.12, p.1103, 2002.

MANCIA Giuseppe et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of hypertension(ESH) and European Society of Cardiology(ESC). **J Hypertens.** v.25, n.6, p.1105-1187, 2007.

MANSIER, P. et al. Beta adrenergic an muscarinic receptors in compensatory cardiac hypertrophy of the adult rat. **Pflugers Archiv : European Journal of Physiology.** v.424, p.354-360, 1993.

MCGIFF, J.C; QUILLEY, C.P. The rat with spontaneous genetic hypertension is not a suitable model of human essential hypertension. **Circ Res** v.48,p.455-464, 1981

MEDEIROS,,A. et al. Swimming training increased cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Braz J Med Biol Res.** v.37,n.12,p.1909-1917, 2004.

MESSERLI, F.H; GROSSMAN, E. Beta-blockers in hypertension: is carvedilol different? **Am.J.cardiol .** v.93, p.7-12, 2004.

NABIKA, T. From animal models to humans. **Clin Exp Pharmacol Physiol** v.26, p.541-543, 1999.

NACCARELLI, G.V; LUKAS, M.A. Carvedilol antiarrhythmic properties:therapeutic implications in patients with left ventricular dysfunction. **Clin Cardiol.** v.28, p-165-173, 2005.

NETO, J.A.F; MADY, C; GRUPI, C. Efeitos do tartarato de metoprolol em pacientes portadores de insuficiência cardíaca. **Arq Bras Cardiol.** v.86, n.87, p.329-335, 2006.

- NOGUCHI, N; NISHINO, K; NIKI, E. Antioxidant action of antihypertensive drug, carvedilol, against lipid peroxidation. **Biochem Pharmacol** v.59, n.9, p 1069-1076, 2000.
- OIGMAN, W; NEVES, M.F.T. Cardiologia: Hipertensão Arterial. **Revista Jovem Médico**. v.4, n.2, 1999.
- OKAMATO, K; AOR, K. Development of strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J** v.27, p.282-293, 1963.
- OPIE, L.H et al. Controversies in ventricular remodeling. **Lancet** v.367,n. 9507,p.356-367, 2006.
- PLAVNIK, F.L. Betabloqueadores de 3 geração:implicações do uso em hipertensos. **Rev Bras Hipertens**.v.11, n.2, p.61-64, 2008.
- PORTO, C.C. **Doenças do Coração. Prevenção e Tratamento**. Guanabara Koogan.ed.Rio de Janeiro, 1998.
- ROHINI, A et al. Molecular targets regulators of cardiac hypertrophy. **Pharmacol. Res.** v.61, n.4, p.269-280, 2010.
- ROMANO, M.M.D; MACIEL, B.C. Alterações cardíacas decorrentes da hipertensão arterial. **Rev Soc.Cardiol Estado São Paulo**.v.18,n.2,p.169-174, 2008.
- ROSÁRIO, T.M. et al. Prevalência controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em nobres,MT. **Arq Bras Cardiol**.v.93,n.6,p.672-678, 2009.
- SAMESINA, N; AMADEO, C. Hipertrofia ventricular esquerda. **Rev Bras Hipertens** v.8, n.3, p.316-320, 2001.
- SARAGOÇA, M; TARAZI, R.C. Impaired cardiac contractile response to isoproterenol in the hypertensive rat. **Hypertension**.v.3, p.380-385, 1981.
- SARAGOÇA, M; TARAZI R.C. Left ventricular hypertrophy in rats with renovascular hypertension: alterations in cardiac function and adrenergic responses. **Hypertension**. v.3, suppl 2, p.171-176, 1981.
- SCHAEFER, W.H. et al. Metabolism of carvedilol in dogs,rats and mice. **Drug Metab Dispos**.v.26, n.10,p.958-969,1998.
- SCHLIEPER, H.T.; MOLL, M.; SCHMID, B. Alterations of cardiac a and b-adrenoreceptors and inotropic responsiveness in hypertensive transgenic rats harbouring the mouse renin gene (TGR(mREN2)). **Clin Exper Hypertenion**.v.17, p.631-648, 1995.
- SCHLÜTER, K.D; WOLLERT, K.C. Synchronization and integration of multiple hypertrophic pathways in the heart. **Cardiovasc Res**.. v.63, n.3, p.367-372, 2004.

SICA, D.A; BLACK, H.R. Pharmacologic considerations in the positioning of beta blockers in antihypertensive therapy. **Curr Hypertens Reports**.v.10, p.330-335, 2008.

Sociedade Brasileira de Cardiologia; Sociedade Brasileira de Hipertensão; Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**.v.95, suppl.1, p.1-51, 2010.

STAFYLAS, P.C; SARAFIDIS, P.A. Carvedilol in hypertension treatment. **Vasc Health Risk Manag**.v.4, n.1, p.23-30, 2008.

TAQUINI, C. M. et al. Improvement of cardiac contractile response to b-adrenergic stimulation in normal and two-kidney, one clip hypertensive rats treated with nitrendipine. **J Cardiovasc Pharmacol** v.17, suppl 2, p.175-178, 1991.

TAQUINI, C.M. et al. Improvement of cardiac contractile response to b-adrenergic stimulation in normal and two-kidney, one clip hypertensive rats treated with nitrendipine. **J Cardiovasc Pharmacol**. v.17, suppl 2, p.175-178, 1991.

WEBER, K.T; BRILHA,C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium fibrosis and renin angiotensin aldosterone system. **Circulation**.v.83, p.1849-1865, 1991.

WEBER. M.A. et al. Controlled-Release Carvedilol in the treatment of Essential hypertension. **Am J Cardiol**.v.98, suppl 32-38, 2006.

WEIR, M.R. Beta-Blockers in the treatment of hypertension:are there clinically relevant differences? **Postgrad Med**.v.76, p. 533-542, 2009.

XIAO, R.P. et al. Coupling of β_2 adrenoceptor to Gi proteins and Its physiological relevance in murine cardiac myocytes. **Circ Res**.v.84, n.1, p.43-52, 1999.

YUE, T.L. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist is an antioxidant and free radical scavenger. **J Pharmacol Exp Ther**. v.263, n.1, p.92-98, 1992.

YUSUF, S. et al. Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. **Prog Cardiovasc Dis**. v.27, n.5, p.335-371, 1985.

YUZO, H. et al. An assessment of left ventricular systolic function in pressure and volume overload heart with two shell compartment model of ellipsoid revolution. **Jap Circ J** v.54, p.547-553, 1990.



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4531/4173; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 030/09 DO COMITÊ DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O
PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 080/08**

Projeto Pesquisa: "Efeitos do caverdilol na hipertrofia ventricular esquerda em ratos hipertensos".

Pesquisador Responsável: Priscila da Penha Apolinário Barboza

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 25 de março 2009.

Prof. Dr. Alcino Eduardo Bonella
Coordenadora do CEUA/UFU

Anexo B
Passo-a-passo da preparação histológica

Passo I: Inclusão do material em parafina

- Fixado o material em formol
- Cortado o músculo cardíaco e colocado em K7
- O material foi disponível em álcool a 70% por 30 min
- Álcool 85% por 30 min
- Álcool 95% por 30 min
- Álcool absoluto I por 30 min
- Álcool absoluto II por 30 min
- Álcool absoluto III por 30 min
- Foi retirado o excesso de álcool em papel toalha
- Xilol I por 30 min
- Xilol II por 30 min
- Xilol III por 30 min
- Retirado o excesso em papel toalha
- Parafina I
- Parafina II
- Parafina III
- Inclusão em bloco de parafina

O bloco foi cortado em micrótomo 5µm sendo realizados dois cortes em cada de lâmina

Passo II:Hidratar (desparafinizar)-preparação para coloração de HE

- Xilol III por 10 min
- Xilol II por 10 min
- Xilol I por 10 min
- Retirado o excesso com o papel toalha
- Álcool absoluto III por 30 seg
- Álcool absoluto II por 10 seg
- Álcool absoluto I por 10 seg

- Álcool 95% por 10 seg
- Álcool 85% por 10 seg
- Álcool 70% por 10 seg
- Água corrente por 20 min
- Água destilada por 5 min
- Clorada com **hemotoxilina de Harris** por 30 seg
- Água corrente 20 min
- Água destilada 5 min
- Corado com **eosina/floxina** de 2min
- Água corrente para evitar o excesso de eosina
- Água destilada por 4 seg

Passo III:Desidratar(dianifizar)

- Álcool 70% por 10 seg
- Álcool 85% por 10 seg
- Álcool 95% por 10 seg
- Álcool absoluto I por 10 seg
- Álcool absoluto II por 10 seg
- Álcool absoluto III por 10 seg

Foi retirado o excesso de álcool em papel toalha

- Xilol I por 30 seg
- Xilol II por 30 seg
- Xilol III por 30 seg

Montar a lamínula com entelan, e colocar na estufa para secar.

ANEXO C

Passo II:Hidratar (desparafinizar)-preparação para coloração de colageno

- Xitol III por 10 min
- Xitol II por 10 min
- Xitol I por 10 min
- Retirado o excesso com o papel toalha
- Álcool absoluto III por 30 seg
- Álcool absoluto II por 10 seg
- Álcool absoluto I por 10 seg
- Álcool 95% por 10 seg
- Álcool 85% por 10 seg
- Álcool 70% por 10 seg
- Água corrente por 20 min
- Água destilada por 5 min
- Secar o excesso com papel toalha
- Clorada com **ácido fosfomobilidênico** 0,2% por 2 min,secar o excesso com papel toalha.
- Corado com **picrosirius red** por 90 min
- Solução ácido clorídrico á 0,01% por 2 min
- Água corrente por 15 min
- Água destilada por 5 min

Passo III:Desidratar(dianifizar)

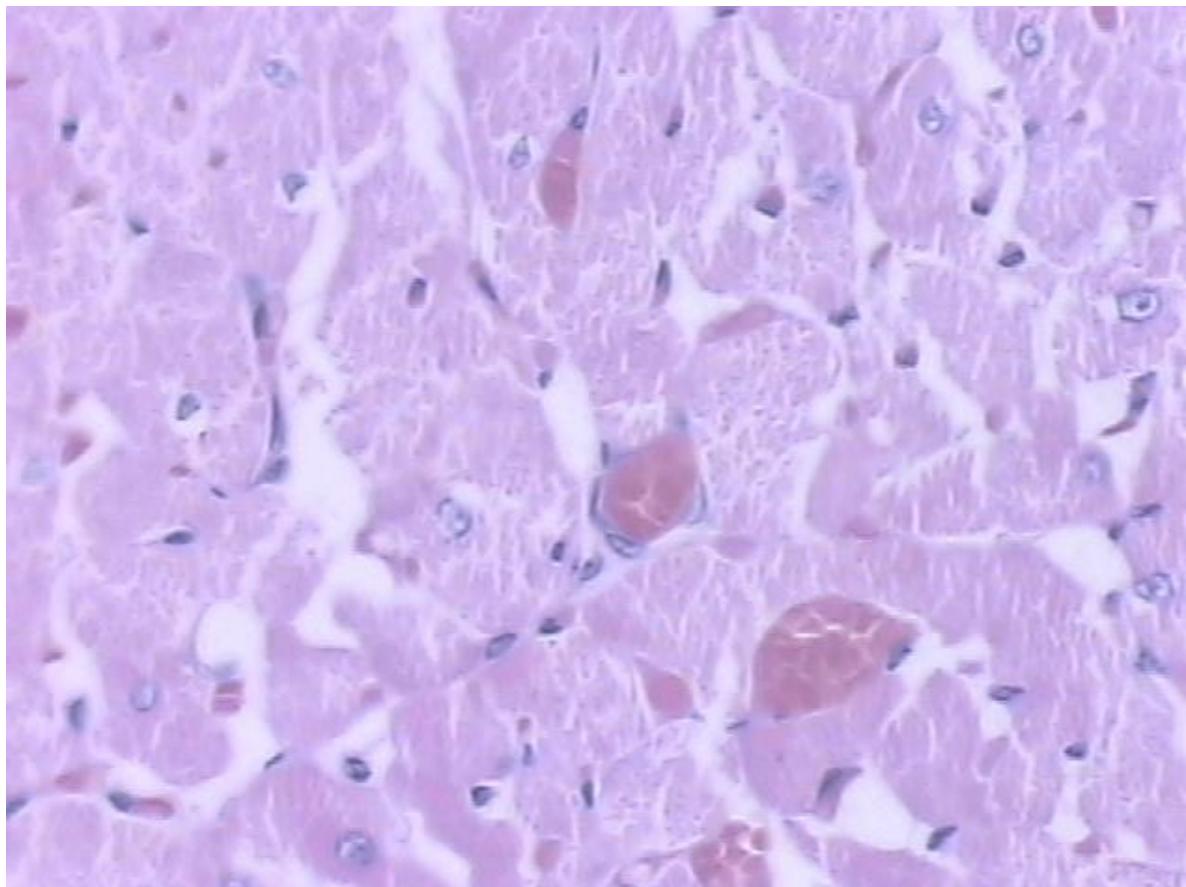
- Álcool 70% por 10 seg
- Álcool 85% por 10 seg
- Álcool 95% por 10 seg
- Álcool absoluto I por 10 seg
- Álcool absoluto II por 10 seg
- Álcool absoluto III por 10 seg

Foi retirado o excesso de álcool em papel toalha

- Xilol I por 30 seg
- Xilol II por 30 seg
- Xilol III por 30 seg

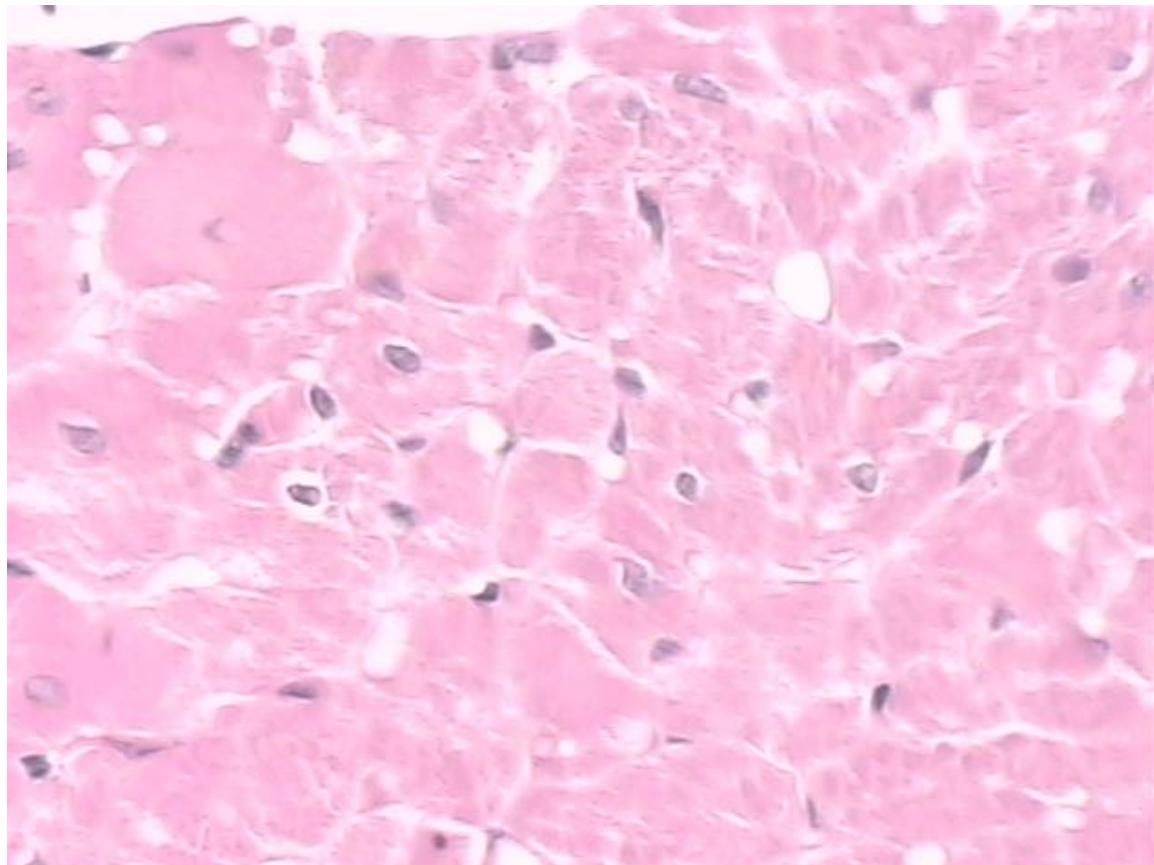
Montar a lamínula com entelan, e colocar na estufa para secar.

ANEXO D-Fotomicrografia de corte transversal de células musculares cardíacas do ventrículo esquerdo



Fotomicrografia de corte transversal de células musculares cardíacas do ventrículo esquerdo de animal do Grupo SHR-C(Aumento de 40x, coloração Hematoxilina Eosina-HE).

ANEXO E: Fotomicrografia de corte transversal de células musculares cardíacas do ventrículo esquerdo



Fotomicrografia de corte transversal de células musculares cardíacas do ventrículo esquerdo de animal do Grupo N-C(Aumento de 40x, coloração Hematoxilina Eosina-HE).

