Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Rodrigo Neto-Ferreira

Efeitos benéficos da rosuvastatina no remodelamento da parede da aorta em ratos deficientes em óxido nítrico

Rio de Janeiro
2008

Rodrigo Neto-Ferreira

Efeitos benéficos da rosuvastatina no remodelamento da parede da aorta em ratos deficientes em óxido nítrico

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Morfologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Morfologia.

Orientador: Prof. Dr. Jorge José de Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Rio de Janeiro

2008

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

F383 Neto-Ferreira, Rodrigo.
Efeitos benéficos da rosuvastatina no remodelamento da parede da aorta em ratos deficientes em óxido nítrico / Rodrigo Ferreira-Neto. – 2008.
46 f.

Orientador: Jorge José de Carvalho.
Coorientadora: Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Morfologia.

1. NG – Nitroarginina Metil Éster. 2. Aorta – Teses. 3. Óxido nítrico – Teses. 4. Hipertensão arterial – Teses. 5. Síndrome metabólica. I. Carvalho, Jorge José de. II. Mandarim-de-Lacerda, Carlos Alberto.
III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 611.132

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____
Assinatura Data

Rodrigo Neto-Ferreira

Efeitos benéficos da rosuvastatina no remodelamento da parede da aorta em ratos deficientes em óxido nítrico

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Morfologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Morfologia.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2008

Banca Examinadora:

_____

Prof. Dr. Jorge José de Carvalho (Orientador)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

_____

Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFAL

_____

Prof^{a}. Dr^{a}. Laís de Carvalho Nadja Lima Pinheiro

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2008

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Maria das Graças Neto, meus avós
e toda família pelo amor, carinho e por tudo que sou.
Ao grande mestre Prof. Marco Aurélio dos Santos (*in memorian*)
que me ensinou sempre a lutar pelos meus ideais.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela modesta consciência que adquiri ao longo desta caminhada, que sem o seu consentimento nada deste trabalho teria sido realizado.

Agradeço aos professores Jorge José de Carvalho e Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda pela paciência, orientação e incentivo tornando possível a efetivação deste trabalho.

A professora Laís de Carvalho pela disponibilidade e ajuda indispensável nas horas que precisei.

Aos professores Verônica Clemente Villar Martini ("Mãe Verônica"), Aparecida Alves do Nascimento e Paulo Roberto Bernardes pelo grande incentivo e contribuição na minha vida profissional.

À Ana Lúcia Rosa Nascimento uma grande amiga, que muito contribuiu para realização deste trabalho, me ensinado as rotinas e procedimentos histológicos do Laboratório de Ultraestrutura e Biologia tecidual.

A todos os amigos do Departamento de Histologia e Embriologia (Jéssica Texeira, Alyne Félix, Jemima Fuentes, Moyses Sant'anna, Luciana Studart, Angélica Beatriz Pinto, Jeanine Salles, Ana Carolina Stumbo e Simone Carvalho).

Aos funcionários do Departamento de Histologia e Embriologia: Josefa Alves, Angélica Alves, Alan César, Jéssica Flaneto, Kátia Lima e Mauro Santos (*in memorian*).

Aos amigos do LMMC (Laboratório de Morfometria e Morfologia Cardiovascular) Lyana Parante, Daniele Bezerra, Alessandra Pinheiro, Thatiany Marinho, William Lannes, Cláudia Marques, Karla Pires, Mariana Catta-Preta, Júlio César, Leonardo Mendonça, Caroline Fernandes, Ana Rosa Cunha e Fernanda Amorim que juntos aprendemos a essência de uma grande amizade.

Aos meus amigos Sandra Barbosa, Thiago Torres, Glauciane Lacerda, Geraldo de Oliveira , Vinícius Rocha pela ajuda nos momentos difíceis. Agradeço a DEUS por ter sido abençoado com grandes e sinceras amizades.

As grandes amigas Vanessa Mello e Bianca Gregório, que prestaram grande auxílio nos momentos que mais precisei, obrigado meninas.

A Aline Junqueira por ter sido fundamental nesta etapa final, me ajudando com a formatação do trabalho, muito obrigado.

Aos meus amigos e alunos da Fundação Educacional Dom André Arcoverde.

E a todos que de alguma forma, mesmo não citado aqui, contribuíram para a realização deste trabalho.

O homem é a soma de seus inúmeros
ancestrais e profissionalmente é a síntese
de seus muitos mestres.
Bhaska

RESUMO

NETO-FERREIRA, Rodrigo. Efeitos benéficos da rosuvastatina no remodelamento da parede da aorta em ratos deficientes em óxido nítrico. 2008. 46 f. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

O excesso da adiposidade e o aumento da pressão arterial (PA) na infância juntamente com modificações longitudinais adversas na idade adulta, são importantes para definir as variáveis de risco da síndrome metabólica ao longo do tempo, o que caracteriza a história natural precoce da hipertensão. Os inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA) redutase, ou estatinas, afetam a função endotelial independente de sua capacidade hipolipemiante, podendo ter importante função no controle da pressão arterial devido aos seus efeitos pleiotrópicos. Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos benéficos da Rosuvastatina no remodelamento estrutural e ultraestrutural da aorta em modelo de hipertensão induzida pelo bloqueio da óxido nítrico sintetase (NOS) em ratos. Ratos Wistar foram divididos em 4 grupos: grupo controle (C), normotensos não tratado; grupo controle tratado (CR), normotensos tratados com Rosuvastatina (20mg/kg/dia); grupo L-NAME (LN), hipertensos que receberam L - NAME (40mg/kg/dia); e grupo L-NAME tratado (LNR), que recebeu L-NAME e Rosuvastatina nas mesmas doses. Os animais foram anestesiados profundamente e sacrificados na quinta semana de administração das drogas. A administração de L-NAME levou a um aumento nos valores da pressão arterial nos grupos LN e LNR. O tratamento concomitante de L-NAME com Rosuvastatina mostrou eficácia na redução dos níveis da pressão sanguínea em comparação com o grupo hipertenso. Observou-se um maior espessamento da túnica intima e média da aorta torácica no grupo LN, mas não no grupo LNR. A administração de Rosuvastatina a animais deficientes em NO provocado pela administração crônica de L-NAME durante cinco semanas provou ter efeitos benéficos na pressão sanguínea, melhorando a disfunção endotelial, e atenuando o remodelamento adverso estrutural da parede da aorta.

Palavras-chave: Hipertensão arterial. Òxido nítrico. L-NAME. Remodelamento vascular.

ABSTRACT

The excessive adiposity and increased blood pressure, beginning in childhood, together with accelerated adverse longitudinal changes in risk variables of metabolic syndrome throughout young adulthood characterized the early natural history of hypertension. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, or statins, affect the endothelial function independently of its hypolipemiant capacity and, additionally, could have importance in the control of the blood pressure due to their pleiotropic effects. This study aimed at evaluating the beneficial effects of Rosuvastatin upon structural and ultrastructural aortic remodeling in a model of hypertension induced by NO synthase blockade in rats. Wistar rats were divided into 4 groups: Control group (C), normotensive untreated; control treated group (CR), normotensive treated with Rosuvastatin (20mg/kg/day); L-NAME group (LN), hypertensive that received L-NAME (40mg/kg/day); and L-NAME treated group (LNR), which received L-NAME and Rosuvastatin in the same doses. Animals were deeply anaesthetized and killed after 5 weeks of drugs administration. The L-NAME administration yielded higher blood pressure (BP) values in LN and LNR groups. The concomitant treatment with L-NAME and Rosuvastatin showed efficacy in reducing BP levels in comparison with the hypertensive group. It was observed thicker internal and media tunics of thoracic aorta in LN group, but not in LNR group. All in all, the administration of Rosuvastatin to NO deficient animals provoked by chronic L-NAME administration during five weeks proved to have beneficial effects on BP, improved the endothelial dysfunction, and attenuated the adverse structural remodeling of the aortic wall.

Keywords: Arterial hypertension. Nitric oxide. L-NAME. Vascular remodelling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Esquema da inibição da síntese do colesterol no fígado. 15
Figura 2 Efeitos pleiotrópicos da estatina no endotélio vascular. 17
Figura 3 Esquema mostrando a produção de NO. 19
Figura 4 Pressão arterial (PA) 29
Figura 5 Fotomicrografias da parede da aorta torácica 31
Figura 6 Tensão Circunferencial de Parede (TCP) e Estresse de Tensão (ET). 32
Figura 7 Micrografia eletrônica de parte da aorta do grupo LN 33
Figura 8 Micrografia eletrônica de parte da aorta do grupo C 34
Figura 9 Micrografia eletrônica da aorta do grupo CR 35
Figura 10 Micrografia eletrônica da aorta do grupo LNR 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Níveis plasmáticos de Triglicerídeos e Colesterol. 30
Tabela 2 Parâmetros do remodelamento aórtico..... 30

SUMÁRIO

INTRODUÇÂO 13

1 **REVISÂO DE LITERATURA** 14

1.1 **Origem e mecanismo de ação das estatinas** 14

1.2 **Efeitos pleiotrópicos das estatinas** 16

1.3 **Hipertensão arterial e estatinas** 17

1.4 **Óxido nítrico** 18

1.4.1 Produção 18

1.4.2 Inibição do óxido nítrico pelo L-NAME 19

1.5 **Remodelamento vascular e estatinas** 19

2 **MATERIAIS E MÉTODOS** 22

2.1 **Amostra e procedimentos** 22

2.2 **Eutanásia e preparação técnica do material** 23

2.3 **Microscopia de luz** 23

2.4 **Microscopia eletrônica de transmissão** 24

2.5 **Morfometria** 24

2.6 **Túnica média** 24

2.7 **Fibras e lâminas elásticas** 25

2.8 **Tensão circunferencial da parede e estresse de tensão** 25

2.9 **Análise estatística** 26

3 **RESULTADOS** 27

3.1 **Massa corporal e pressão sanguínea** 27

3.2 **Bioquímica sanguínea** 27

3.3 **Túnica média, fibras e lâminas elásticas** 27

3.4 **Tensão circunferencial da parede e estresse de tensão** 27

3.5 **Aspectos ultraestruturais** 28

4 **DISCUSSÃO** 37

5 **CONCLUSÃO** 40

REFERÊNCIAS 41

ANEXO A- Protocolo Comissão de Ética da UERJ 45

ANEXO B- Confirmação de submissão de artigo científico 46

INTRODUÇÃO

Os inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA) redutase, ou estatinas, são alguns dos medicamentos amplamente prescritos nos Estados Unidos da América (Belay, Belamarich et al. 2007). Seus benefícios são provenientes tanto da redução nos níveis das lipoproteínas aterogênicas (LDL-C) quanto do aumento das lipoproteínas antiaterogênicas (HDL-C) (Nicholls, Tuzcu et al. 2007). Além disso, as estatinas afetam a função endotelial independente de sua capacidade hipolipemiante, podendo ter importante função no controle da pressão arterial devido aos seus efeitos pleiotrópicos (Bezerra e Mandarim-de-Lacerda 2005; Milionis, Liberopoulos et al. 2006).

O bloqueio da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) e, por conseguinte, a biossíntese do óxido nítrico (NO) leva a uma disfunção endotelial e comprometimento da vasodilatação com conseqüente hipertensão arterial sistêmica e sobrecarga cardíaca (Ribeiro, Antunes et al. 1992). Um dos principais órgãos alvo para os efeitos das estatinas é o endotélio vascular, que desempenha um papel importante no desenvolvimento de aterosclerose e angiogênese. As estatinas parecem ter efeitos vasculares independentemente do colesterol, por estarem diretamente envolvidas na restauração e melhora da função endotelial, aumentando a produção do NO, promovendo a re-endotelização após a injúria endotelial, e inibindo a resposta inflamatória dentro da parede do vaso (Ii e Losordo 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos benéficos da Rosuvastatina sobre o remodelamento estrutural e ultraestrutural aórtico em modelo de hipertensão induzida pelo bloqueio da NO sintetase em ratos.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Origem e mecanismo de ação das estatinas

Pesquisas de agentes capazes de reduzirem os níveis de colesterol como meio de prevenir ou atenuar doenças cardiovasculares levou à descoberta de vários inibidores da biossíntese do colesterol (Kornbrust, MacDonald et al. 1989). A compactina foi a primeira substância descrita como inibidora da HMG CoA redutase, isolada de culturas de *Penicillium citrinum*, servindo de base para a produção das estatinas (Brown, Faust et al. 1978). Posteriormente um análogo relacionado estruturalmente à compactina, que difere somente na presença de um grupo metil, a lovastatina (inicialmente chamada de mevinolina) foi isolada de culturas de *Aspergillus terreus*. Após estudo intenso esta droga foi aprovada para uso nos Estados Unidos da América pela "Food and Drug Administration" em 1987 (Brown, Faust et al. 1978).

As estatinas são substâncias que têm capacidade de regular a síntese do colesterol no fígado e em outros tecidos, por competição com a enzima HMG CoA redutase, impedindo a formação do ácido mevalônico. Deste modo, as estatinas impedem a síntese de importantes isoprenóides, tais como farnesilpirofosfato e geranilgeranilpirofosfato, que são precursores da síntese do colesterol (figura 1)(Vaughan, Gotto et al. 2000; Wang, Liu et al. 2008).

Estas drogas fazem mais do que apenas competir com os sítios desta enzima; elas alteram sua conformação quando se ligam ao seu sitio ativo, fazendo com que as mesmas aumentem sua eficácia e especificidade (Stancu e Sima 2001).

A inibição da HMG CoA redutase, além de reduzir o colesterol intracelular, induz a ativação de uma protease que libera proteínas reguladoras do retículo endoplasmático. A conseqüente redução do LDL-colesterol nos hepatócitos, desencadeia um aumento na expressão dos receptores hepáticos de LDL, reduzindo o número de LDL circulantes (Brown e Goldstein 1986; Álvarez 1999) e seus precursores (Maron, Fazio et al. 2000; Vaughan, Gotto et al. 2000). Desta maneira, as estatinas reduzem significativamente a incidência de eventos coronarianos, tanto na prevenção primária quanto na secundária das doenças coronarianas. (Stancu e Sima 2001).

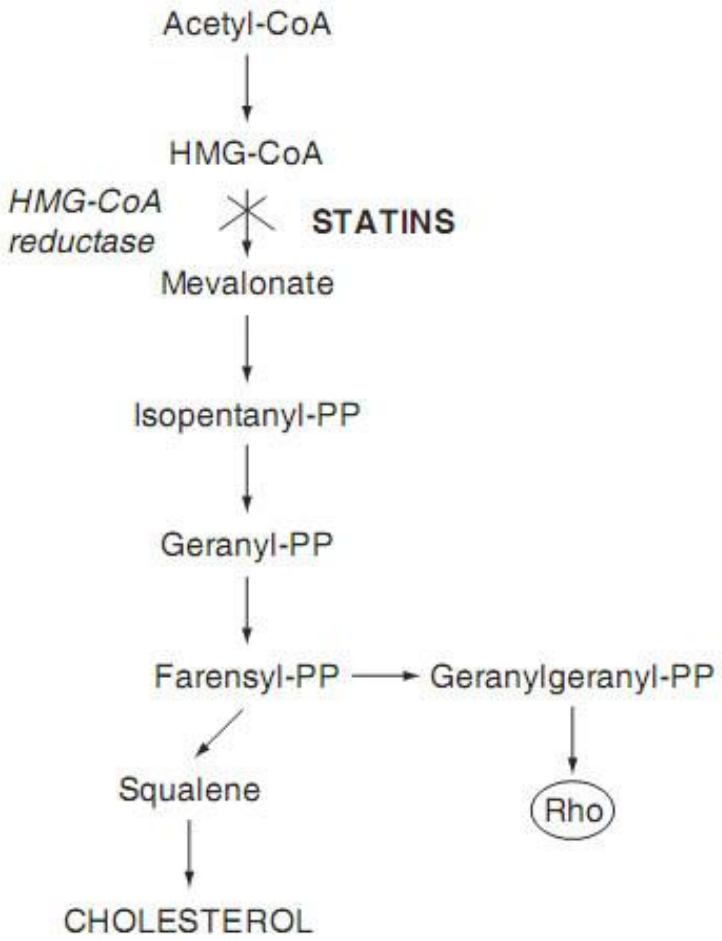


Figura 1. Esquema da inibição da síntese do colesterol no fígado: a estatina interage com o sítio de ligação da HMG Coa redutase atuando como inibidor competitivo, inibindo a síntese do colesterol (McGown e Brookes 2007).

1.2 **Efeitos pleiotrópicos das estatinas**

Os inibidores da HMG CoA redutase, as estatinas, reduzem a mortalidade e morbidade das doenças coronarianas (Zhou, Jaimes et al. 2004; Wang, Liu et al. 2008). No entanto estas drogas podem exercer efeitos independentes de sua capacidade hipolipemiante, conhecidos como efeitos pleiotrópicos. Estes possuem grande importância na disfunção endotelial, pressão arterial, agregação plaquetária e efeitos anti-inflamatórios (Koh 2000; Koh, Quon et al. 2008).

O NO representa um importante fator relaxante vascular derivado do endotélio, cuja expressão também é regulada pela via da HMG CoA redutase (Álvarez 1999). Estudos clínicos e experimentais demonstram que a hipercolesterolemia pode prejudicar a vasodilatação dependente do endotélio a partir das moléculas de LDL-oxidada produzida pelos macrófagos, que promovem a diminuição da produção e liberação do NO através da liberação do ânion super-óxido (Alvarez-de-Sotomayor, Perez-Guerrero et al. 1999). Desta maneira, as estatinas contribuem com o efeito antioxidante produzido pelas LDL, diminuindo a formação de "células espumosas" pelos monócitos. Isto promove a estabilização de placas ateroscleróticas, (Álvarez 1999; Monetti, Canavesi et al. 2007; Ott, Schlaich et al. 2007; Kuwahara, Sasaki et al. 2008) melhorando a vasodilatação pelo aumento de vasodilatadores endógenos (NO) através da ativação de eNOS (Figura 2) (Ii e Losordo 2007).

Essas propriedades coletivamente referidas a esses efeitos podem diferir de uma estatina para outra. Dúvidas quanto à sua importância clínica existem, e atualmente, nenhuma recomendação clínica pode ser feita para distinguir uma estatina de outra, baseado nos seus benefícios que vão além de sua capacidade hipolipemiante (Chong, Seeger et al. 2001).

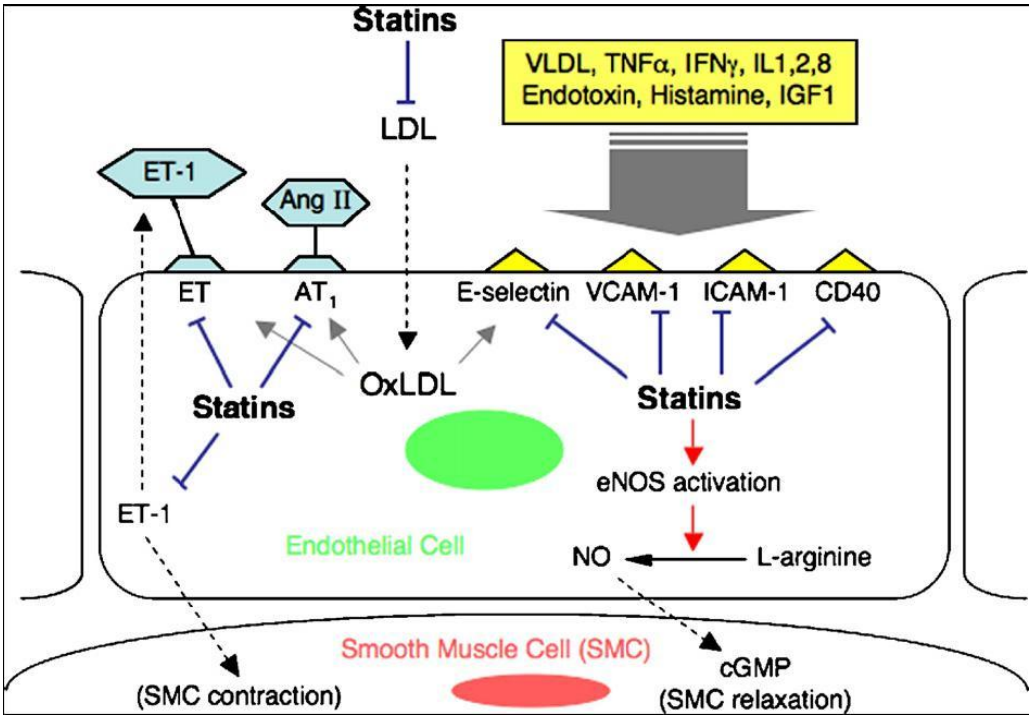


Figura 2. Efeitos pleiotrópicos da estatina no endotélio vascular (Ii e Losordo 2007).

1.3 **Hipertensão arterial e estatinas**

O excesso da adiposidade e o aumento da pressão arterial (PA), na infância, juntamente com modificações longitudinais adversas na idade adulta são importantes para definir as variáveis de risco da síndrome metabólica ao longo do tempo, o que caracteriza a história natural precoce da hipertensão (Srinivasan, Myers et al. 2006).

A adiposidade e a dislipidemia estão associadas, por exemplo, em camundongos PLSCR3(-/-), que são produtos de uma classe de genes conservados de *Caenorhabditis elegans* até os humanos, o qual, aos dois meses de idade, demonstram acúmulo de gordura abdominal acompanhada por resistência a insulina/ hiperinsulinemia, intolerância a glicose e dislipidemia (Wiedmer, Zhao et al. 2004).

Muitos hipertensos estão sob tratamento hipolipemiante com inibidores da HMG CoA redutase devido à associação entre a hipercolesterolemia e hipertensão arterial, (Álvarez 1999) sendo a prescrição de estatinas, associada a drogas

antihipertensivas, um novo alvo terapêutico para reduzir os possíveis eventos cardiovasculares (Hebert, Gaziano et al. 1997; Girerd e Giral 2004).

1.4 **Oxido nítrico**

1.4.1 Produção

O fluxo sanguíneo pode afetar as artérias através da força de fricção sanguínea conhecida como “estresse de cisalhamento”, e este é sentido pelas células endoteliais que liberam numerosos fatores vasoativos, tais como Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio (FHDE), Prostaciclinas e o NO. Este último recebeu atenção considerável por ser um dos vasodilatadores endógenos mais importantes.

O NO é formado pelo seu precursor, o aminoácido L-arginina, através de um processo catalisado pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS). Este atravessa o endotélio para o musculatura lisa vascular, estimulando a enzima guanilato ciclase e conseqüentemente a formação do monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), resultando na modulação do diâmetro vascular pela sua habilidade em relaxar o músculo liso (Davignon e Ganz 2004).

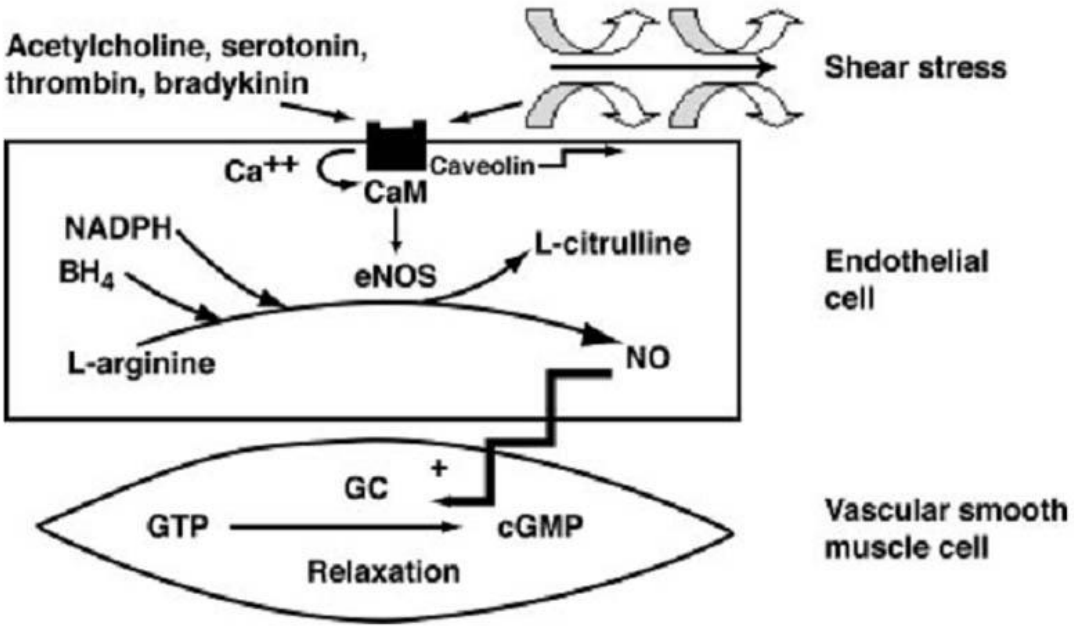


Figura 3. Esquema mostrando a produção de NO pelas células endoteliais e seu efeito vasodilatador (Davignon e Ganz 2004).

1.4.2 Inibição do Óxido Nítrico pelo L- NAME

A administração aguda de análogos da L-arginina como o L-NAME (hidrocloreto de NG-nitro-metil-ester-L-arginina) é capaz de inibir a isoforma endotelial NOS e a biossíntese do NO, resultando no bloqueio de seus efeitos vasorrelaxantes. Sua administração crônica em ratos tem desenvolvido um modelo de hipertensão arterial sistêmica de grande magnitude e de natureza progressiva. (Pereira, Vianna et al. 1998)

1.5 **Remodelamento vascular e estatinas**

Na hipertensão arterial sistêmica (HAS) ocorrem várias alterações na morfologia dos vasos sanguíneos (Mayet e Hughes 2003), acompanhada por um espessamento das túnicas intima e média das artérias de grande calibre, principal-

mente causada por proliferação, hipertrofia, migração, apoptose das células endoteliais e musculares lisas vasculares, e acúmulo de componentes da matriz extracelular (MEC) (principalmente fibras elásticas) no espaço subendotelial (Qin, Ishiwata et al. 2000; Ge, Hu et al. 2003; Prado e Rossi 2006). Essas mudanças estruturais são conhecidas como remodelamento vascular, um processo adaptativo a mudanças da hemodinâmica (Rossi e Colombini-Netto 2001).

Vários estudos descrevem a MEC como não sendo meramente uma estrutura passiva, uma vez que influencia a transdução de sinais, fatores de crescimento e diferenciação celular (Streuli 1999). A íntima relação entre a MEC e as células pode modular diretamente o comportamento celular, principalmente suas respostas a sinais mitogênicos (Taipale e Keski-Oja 1997).

As fibras elásticas são múltiplos componentes macromoleculares essenciais da MEC, apresentando deposição fortemente regulada com várias etapas hierárquicas de desenvolvimento e diversas funções biomecânicas (Kielty, Sherratt et al. 2002). A elastogênese se desenvolve por três fases sucessivas e graduais: 1) Fibras Oxitalânicas, formada de micrifibrilas com aproximadamente dez nanômetros de diâmetro (ação de resistência mecânica); 2) Fibras Elaunínicas, formadas por microfibrilas entremeadas por elastina (menor resistência mecânica e maior elasticidade); 3) Fibras Elásticas, com uma grande quantidade de material amorfo, formada por uma massa contínua de elastina, que predominam sobre as microfibrilas, intensificando a função de distensão (Cotta-Pereira e Iruela-Arispe 1989). Diferentes proporções de elastina e microfibrilas promovem características adaptativas funcionais variáveis de acordo com a necessidade local do tecido (Kielty, Sherratt et al. 2002).

A injúria endotelial representa um evento precoce no desenvolvimento da lesão aterosclerótica, induzida pela hipercolesterolemia, o que ocasiona uma redução na capacidade das células endoteliais em produzir NO, (Stancu e Sima 2001; Davignon 2004) conduzindo à agregação plaquetária, adesão acelerada de leucócitos e relaxamento vascular prejudicado associado à vasoconstricção paradoxal pela acetilcolina (Davignon 2004; Davignon e Ganz 2004; Ii e Losordo 2007).

As HMG CoA redutases reduzem a expressão da caveolina-1 nas células endoteliais, resultando no aumento da produção de NO. Essa redução da expressão da caveolina-1 induzida pela administração de estatinas é independente dos

níveis de LDL-colesterol. Outro mecanismo proposto é a inibição da isoprenilação das proteínas Rho que regulam negativamente a expressão da eNOS. Estas proteínas necessitam ser modificadas por geranilgeranilação, para unirem-se a membrana plasmática da célula endotelial, e realizar a função inibitória da expressão da ON sintetase, resultando no aumento da expressão de eNOS pela estabilidade do seu RNA mensageiro (Álvarez 1999; Davignon e Ganz 2004; Ii e Losordo 2007).

Estudos recentes demonstraram que a Rosuvastatina modula mudanças no fenótipo das células musculares lisas vasculares (CMLV) e, subseqüentemente, sua proliferação e migração, indicando uma participação importante do receptor de uroquinase neste processo. Este mecanismo contribui para os efeitos benéficos da Rosuvastatina no remodelamento vascular negativo, independente de sua capacidade hipolipemiante (Ge, Hu et al. 2003; Kiyan, Kusch et al. 2007).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostra e procedimentos

Os procedimentos foram realizados de acordo com os padrões internacionais de experimentação com animais, conforme indica o documento "Care Use of Laboratory Animals" – US National Institute of Health 85-23, revisado em 1996. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê para Uso e Cuidado de Animais Experimentais da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (protocolo número CEA/112/2006, no anexo).

Foram estudados ratos machos Wistar (n=40), obtidos de colônias do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia da UNIFESP, e mantidas no biotério do Departamento de Histologia e Embriologia. Os animais tinham 04 meses de idade no início do experimento e foram manipulados por duas semanas antes do início do estudo para se habituarem aos processos de aferição da PA e massa corporal que foram verificados semanalmente durante todo experimento.

A PA foi avaliada em ratos conscientes usando o método não invasivo de pletismografia (Letica LE 5100, Panlab, Espanha) através da artéria da caudal.

Ratos Wistar foram mantidos em ambiente com temperatura e umidade controlada (21 ± 2^0 C, 60±10%, respectivamente), submetidos a ciclo de luz invertido de 12 horas (claro/escuro) (luzes artificiais, das 19:00hs às 07:00h) e exaustão 15 min/h. Os ratos foram alimentados com ração balanceada padrão para ratos (Nuvilab, Paraná, Brasil) e água *ad libitum*.

Os animais foram divididos em quatro grupos mantidos separadamente e tratados durante 05 semanas consecutivas:

- **C (grupo controle)**: normotensos sem tratamento. Utilizados como parâmetros de ratos normais sem genes da hipertensão.

- **CR (grupo controle tratado)**: normotensos tratado com Rosuvastatina (Crestor,Astrazeneca,Brasil) na dose 20mg/Kg/dia por gavagem orogástrica durante 05 semanas.

- **LN (grupo L-NAME)**: normotensos sem tratamento que receberam L–NAME (hidrocloreto de N^G-nitro-metil-ester-L-arginina – Sigma-Aldrich Chemical), na dose de 40mg/Kg/dia, dissolvido na água do bebedouro individual, por 05 semanas.

- **LNR (grupo L-NAME tratado)**: normotensos que receberam L–NAME, na dose de 40mg/Kg/dia, dissolvido na água do bebedouro, e concomitante à administração de Rosuvastatina na dose 20mg/Kg/dia por gavagem orogástrica durante 05 semanas.

2.2 **Eutanásia e preparação técnica do material**

No final do experimento, os animais foram anestesiados profundamente com pentobarbital sódico (injeção intraperitoneal, 50mg/kg), e amostras de sangue foram rapidamente obtidas por punção cardíaca e então posteriormente centrifugadas. Os níveis séricos de triglicerídeos e colesterol foram analisados pelo método do picrato alcalino (Kit Labset) usando a análise automática Mega Bayer (Laboratório Central, Hospital Universitário Pedro Ernesto).

Foi realizada uma incisão mediana ventral torácica e foram obtidos anéis da aorta torácica em cortes verticais (Baddeley, Gundersen et al. 1986). Os anéis arteriais de cinco milímetros (05 mm) de comprimento foram obtidos próximo à primeira artéria intercostal e imediatamente isolados e separados da aderência adiposa e do tecido conjuntivo adjacente. Posteriormente, foram imersos em formoldeído a 4% diluído em tampão fosfato, pH 7.2 por 48h (Carson, Martin et al. 1973).

2.3 **Microscopia de luz**

Os fragmentos da aorta torácica foram fixados em formol e processados de acordo com a rotina histológica para microscopia de luz e inclusão em Paraplast plus® (Sigma Chemical Co., St.Louis,USA), sendo posteriormente seccionados com cinco micrômetros (5µm) de espessura em micrótomo American Optical,

modelo Spencer. As secções foram coradas pelo método orcinol neo-fucsina (Fullmer e Lillie 1956) que permitem identificar seletivamente as lâminas e fibras elásticas.

2.4 **Microscopia eletrônica de transmissão**

Os fragmentos retirados da aorta torácica foram imediatamente colocados em uma solução fixadora contendo: 2.5% de glutaraldeído (Riedel-de-Haen) em tampão cacodilato 0.1M (pH 7.2) e 0.25% de ácido tânico (Merck) por três horas. Em seguida, os fragmentos foram pós fixados em tetróxido de ósmio a 1% (Sigma), 0.8% de ferrocianeto de potássio em tampão cacodilato 0.1M (pH 7,2) durante uma hora, e posteriormente, desidratados em acetona e incluídos em Epon (Embed-812). Cortes semifinos de um micrômetro (1µm) de espessura foram corados com azul de toluidina e observados sob microscopia de luz para selecionar áreas dos cortes ultrafinos realizados em ultramicrótomo (Leica Ultracut-UCT). Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e observados em microscópio de transmissão Zeiss EM 906 (Carls Zeiss, Ober-Köchen, Alemanha) em 80KV.

2.5 **Morfometria**

As análises foram realizadas com o auxílio do programa Image-Pro Plus, versão 5.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA) adquiridas (formato TIFF, 36-bit color, 1.280x, 1.024 pixels) com câmera LC Evolution acoplada ao microscópio Olympus BX51. Cinco imagens digitais aleatórias de cortes não consecutivos da aorta torácica por animal foram adquiridas.

2.6 **Túnica média**

Para estimar a espessura da túnica média da artéria (EIM), quatro medidas por imagem foram obtidas em 0;90;180 e 270 graus. A área do lúmen arterial (a)

foi estimada desenhando uma linha em cima do círculo delimitado pela face interna da túnica íntima. O diâmetro do lúmen (d) foi calculado como $d=2\sqrt{a/\pi}$ em mm^2 . A área seccional média da túnica íntima mais a túnica média (AIM, área íntima-média) foi estimada como $[\pi (d/2 + EIM)^2] - [\pi (d/2)^2]$. Todas as medidas foram corrigidas para a compressão do tecido pela fixação e posterior processamento multiplicando pelo coeficiente 1,28 (previamente determinado em estudo piloto)

2.7 **Fibras e lâminas elásticas**

O estudo foi realizado em imagens digitais de cortes da aorta corados com orcinol neo-fucsina para fibras e lâminas elásticas, obtidas usando o mesmo equipamento descrito previamente para captura das imagens. Inicialmente, selecionando as áreas da parede da aorta e usando uma ferramenta para obter o percentual de fibras e lâminas elásticas na área total da parede da aorta. Estas medidas foram obtidas de cinco cortes não consecutivos da aorta por animal. A quantidade total de fibras e lâminas elásticas nas secções foi calculada como o produto de AIM e a porcentagem de área corada pela técnica do orcinol neo-fucsina, expressa em mm^2.

2.8 **Tensão circunferencial da parede e estresse de tensão**

Tensão circunferencial da parede (TCP) foi calculada com base na *Lei de Laplace* como MPAS x (d /2) expressa em dyne/cm (MPAS é a média da pressão arterial sistólica em $dynes/cm^2$ e d é o diâmetro do lúmen arterial em cm). O estresse de tensão (ET) foi computado como TCP / AIM expressado em $dyne/cm^2$ (Carallo, Irace et al. 1999; Prado e Rossi 2006).

2.9 **Análise estatística**

Os dados são mostrados como média e erro padrão da média. As diferenças entre os grupos foram testadas pela análise de variância *one-way* com pós-teste de Tukey. Em todos os casos, o valor de $p<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. As análises e gráficos foram feitos com o programa *GraphPad Prism* versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA).

3 RESULTADOS

3.1 Massa corporal e pressão sanguínea

Não houve diferença significativa entre os grupos para a massa corporal no final conforme descrito a seguir: grupo C, 440,0 ± 44,0 g; grupo CR, 424,0 ± 41,0 g; grupo LN, 447,0 ± 12,0 g; grupo LNR, 430,0 ± 43,0 g.

Os animais começaram o experimento sem diferenças significativas de pressão arterial (PA). Na quinta semana do experimento, a PA foi significativamente mais elevada nos grupos LN (mais de 35%) e LNR (mais de 25%) quando comparados aos seus respectivos controles. Os animais dos grupos C e CR permaneceram normotensos durante todo o experimento (Figura 4).

3.2 Bioquímica sanguínea

Os níveis séricos de colesterol total foram semelhantes em todos os grupos, porém os grupos tratados com Rosuvastatina apresentaram valores de triglicerídeos menores em relação aos grupos não tratados (Tabela 1).

3.3 Túnica média, fibras e lâminas elásticas

A túnica média da aorta estava hipertrofiada com o aumento do número de fibras e lâminas elásticas no grupo LN (Tabela 2), que foi atenuada pelo tratamento com Rosuvastatina. O grupo LNR mostrou uma redução de 30% na espessura da túnica media quando comparado com grupo LN (Tabela 2 e figura 5).

3.4 Tensão circunferencial da parede e estresse de tensão

A média da TCP nos animais deficientes em NO foi maior do que nos respectivos grupos controle (30% maior no grupo LN do que no grupo C, $p < 0,01$;

8% maior no grupo LNR do que no grupo CR, $p < 0,05$) . O comportamento semelhante do ET entre os grupos foi observado (Figura 6).

3.5 **Aspectos ultraestruturais**

As alterações ultra-estruturais na parede da aorta foram marcantes nos ratos deficientes em NO (grupo LN). Neste grupo, o endotélio mostrou grandes vesículas citoplasmáticas e contorno citoplasmático e nuclear irregulares. O endotélio apresenta-se espessado e a lâmina elástica interna de aspecto fragmentado e irregular ao lado da qual se observou abundante matriz extracelular. A projeção de célula muscular lisa da túnica média no espaço sub-endotelial através da lâmina elástica interna foi observado (Figura 7). Em ambos os grupos C e CR, a camada de células endoteliais foi contínua e a túnica media e lâmina elástica interna estavam bem preservadas (figuras 8 e 9). O grupo LNR mostrou características ultra-estruturais semelhantes a dos grupos controles (figura 10).

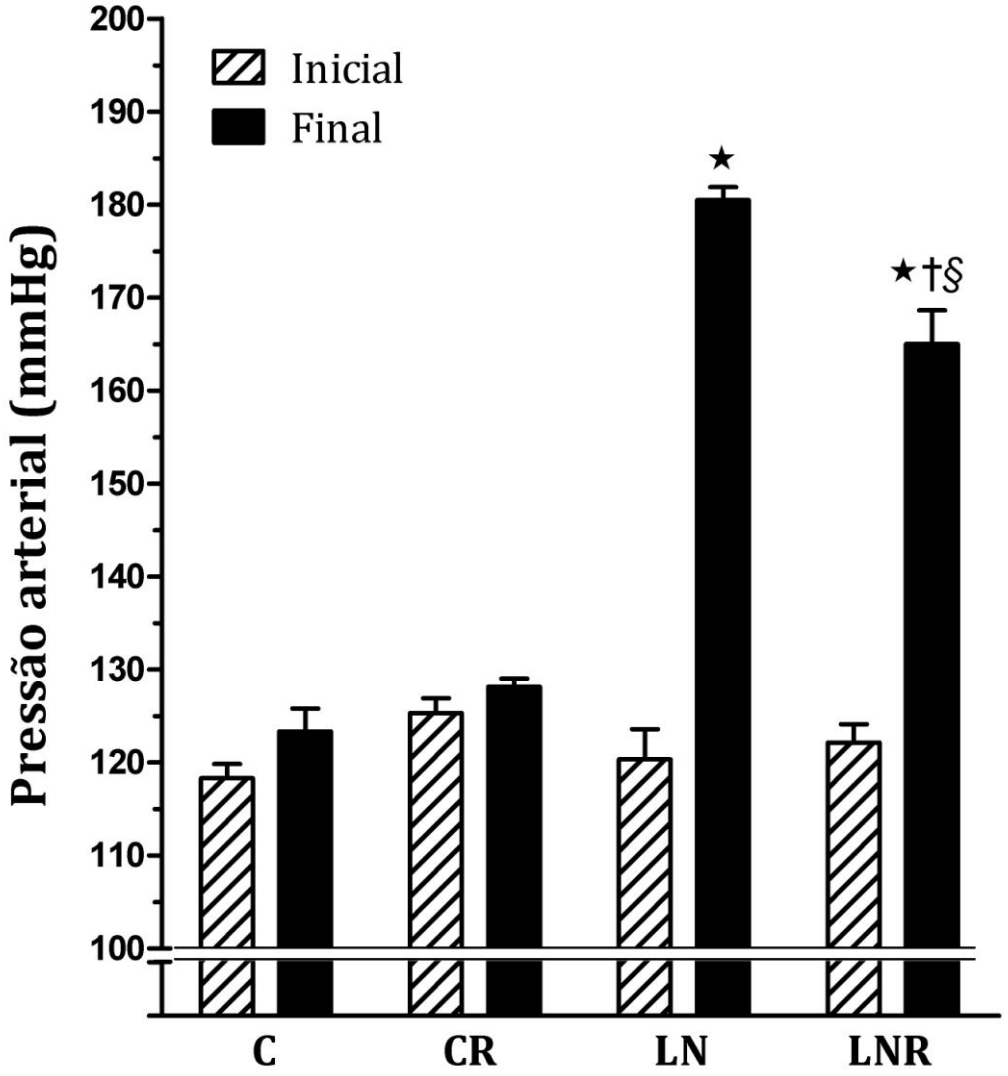


Figura 4. Pressão arterial (PA) na semana inicial do experimento (mostrada na barra branca com listras pretas), e PA na semana final do experimento (mostrada na barra preta). Grupo (C)- normotensos não tratado; grupo (CR)- normotensos tratados com Rosuvastatina; grupo (LN)- hipertensos não tratado e grupo (LNR)- hipertensos tratado com Rosuvastatina. Os grupos foram testados pela análise de variância *one-way* com pós-teste de Tukey: onde p <0,001;★ quando comparado com o grupo C; †, quando comparado com o grupo CR e § quando comparado com o grupo LN.

Tabela 1. Níveis plasmáticos de Triglicerídeos e Colesterol. Valores mostrados como média e erro padrão da média. Os grupos foram testados pela análise de variância *one-way* com pós-teste de Tukey: onde * $p < 0.05$ quando comparado com o grupo controle C ; † $p < 0.05$ quando comparado com o grupo hipertenso LN ; ‡ $p < 0.05$ quando comparado com o grupo controle tratado CR.

Parâmetros	C	CR	LN	LNR
Colesterol (mg/dl)	98 ± 6.0	93 ± 10.6	103 ± 5.2	101 ± 4.6
Triglicerídeos (mg/dl)	22 ± 1.5	14 ± 1.8*†	26 ± 2.1	28 ± 2.2‡

Tabela 2. Parâmetros do remodelamento aórtico. Valores mostrados com média e erro padrão da média. Os grupos foram testados pela análise de variância one-way com pós-teste de Tukey: *$p < 0.05$ quando comparado com o grupo controle C; †$p < 0.05$ quando comparado com o grupo hipertenso LN.

Parâmetros	C	CR	LN	LNR
Espessura TM (µm)	149.2±3.3	173.6±7.4†	270.0±27.9*	192.9±10.4†
Área I-M (mm^2)	0.77±0.02	0.96±0.05†	1.49±0.17*	1.03±0.06†
Fibras e Lâminas Elásticas (%)	39.8±1.4	36.2±0.5	36.1±1.8	41.2±1.5
Fibras e Lâminas Elásticas (mm^2)	0.30±0.02	0.34±0.02†	0.52±0.04*	0.42±0.03

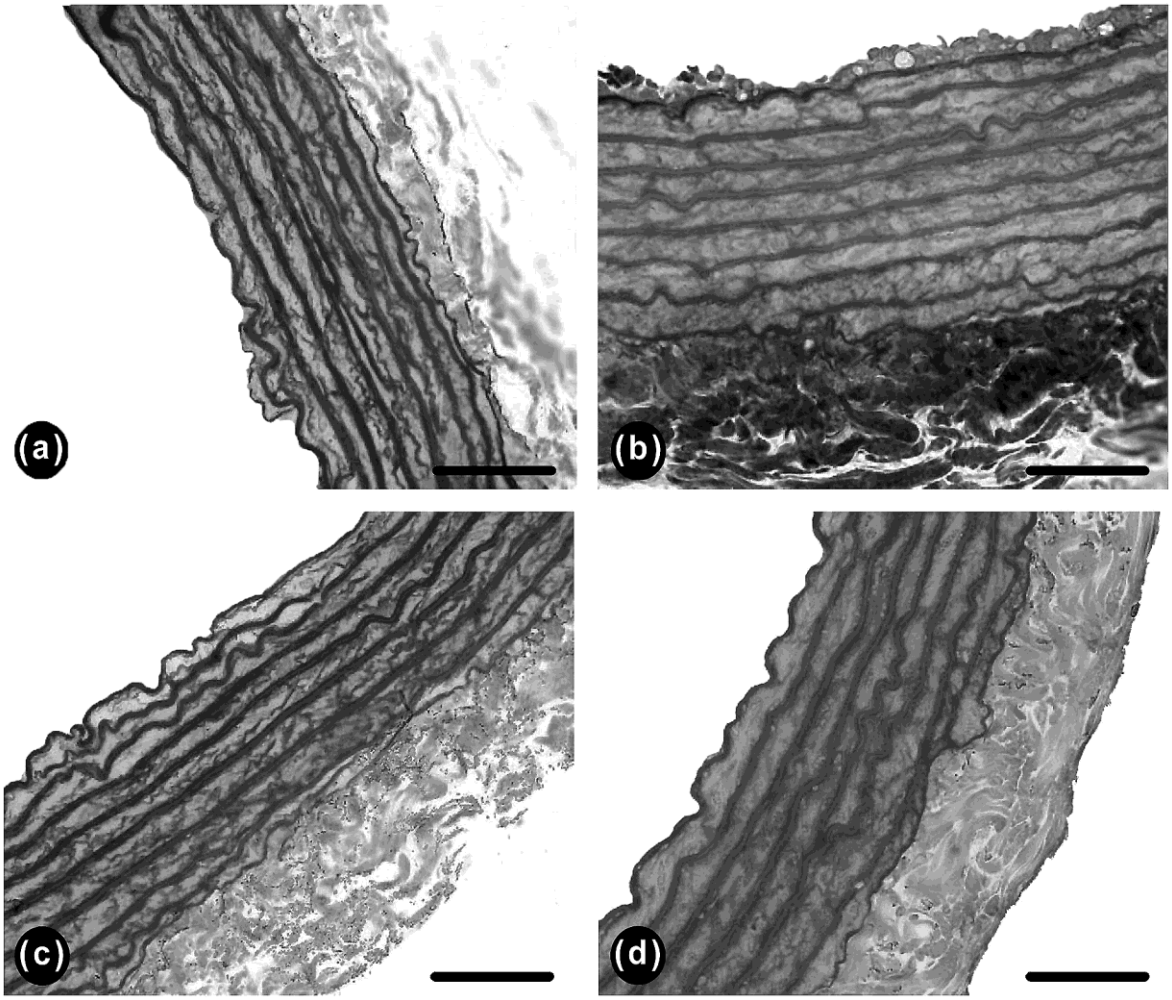


Figura 5**.** Fotomicrografias da parede da aorta torácica coradas por azul de toluidina (mesmo aumento para todas as fotomicrografias): (a) grupo (C) normotensos não tratado; (b) grupo (LN) hipertensos não tratado; (c) grupo (CR) normotensos tratado com Rosuvastatina; (d) grupo (LNR) hipertensos tratado com Rosuvastatina. A espessura da aorta no grupo hipertensos não tratado (LN) (figura b) foi maior que nos outros grupos (barra: 50µm).

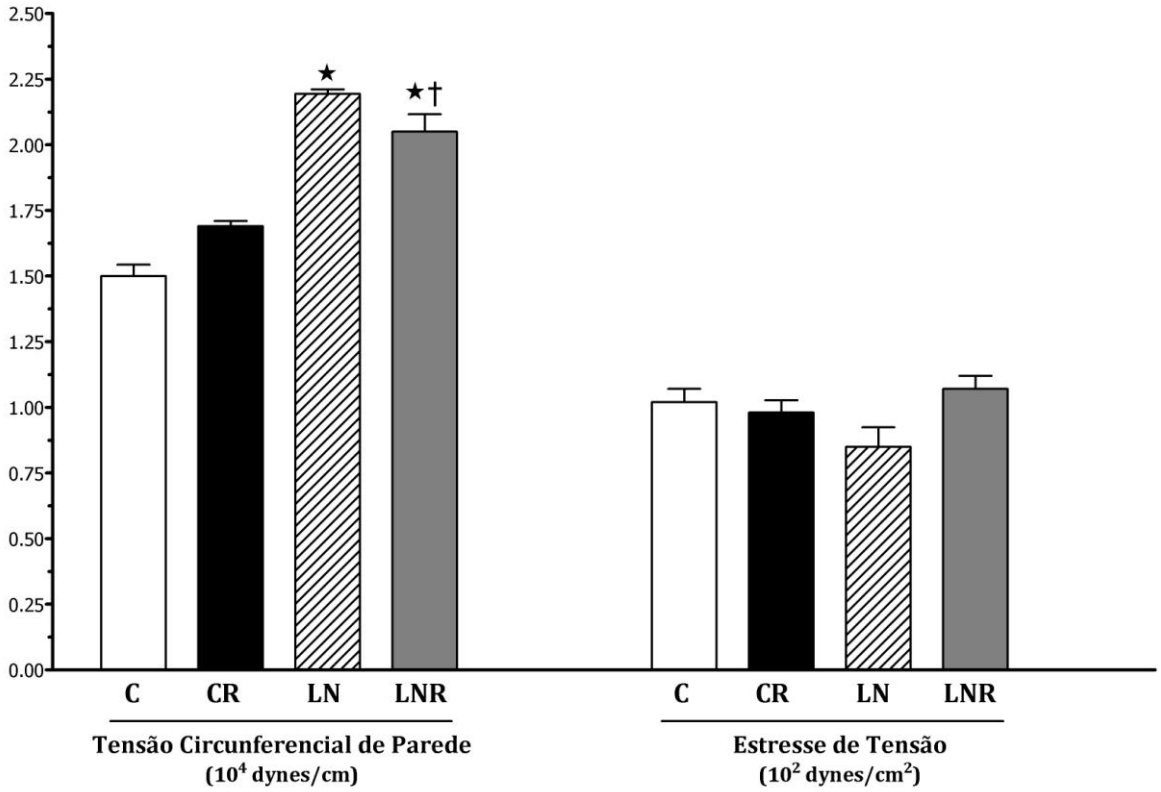


Figura 6**.** Tensão Circunferencial de Parede (TCP) e Estresse de Tensão (ET), grupo (C), normotensos não tratado; grupo (CR), normotensos tratado com Rosuvastatina; grupo (LN), hipertensos não tratado e grupo (LNR), hipertensos tratado com Rosuvastatina. Os mesmos símbolos acima das barras indicam diferenças significativas entre os grupos. Os grupos foram testados pela análise de variância *one-way* com pós-teste de Tukey: p <0,001, ★ quando comparado com o grupo C e †, quando comparado com o grupo CR. Os valores da média do estresse de tensão foram semelhantes em todos grupos.

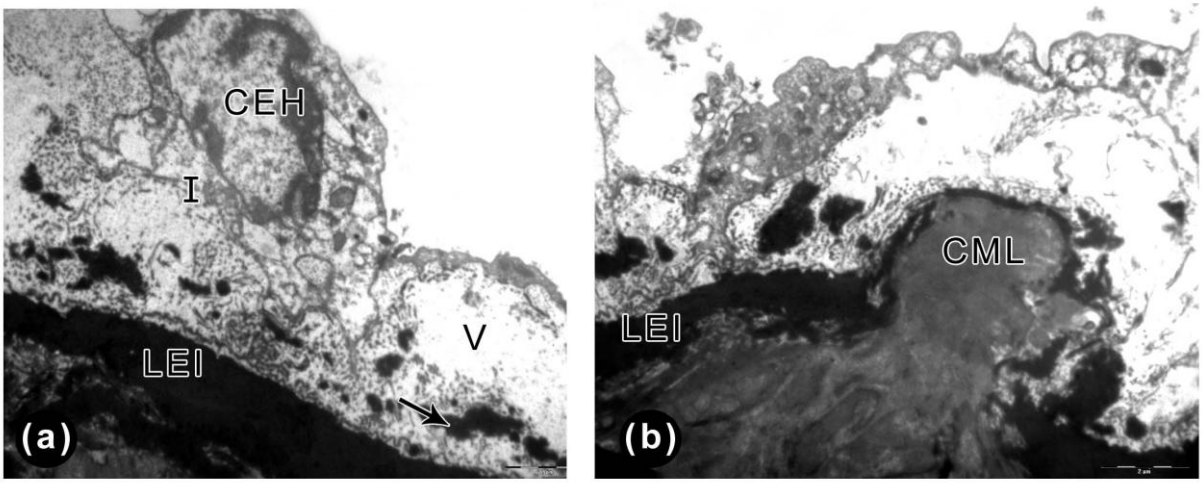


Figura 7. Micrografia eletrônica de parte da aorta do grupo LN (hipertenso não tratado). A íntima (I) encontra-se espessada com a presença de células endoteliais heterogêneas (CEH), com grandes vesículas citoplasmáticas (V), contorno citoplasmático e nuclear irregulares. Foi observado um acúmulo de fibras elásticas (seta) entre as células endoteliais e lâmina elástica interna (LEI) (Figura A). Observamos uma projeção de célula muscular lisa (CML) da túnica média, no espaço sub-endotelial através da lâmina elástica interna (LEI) (Figura B) (barras: 02µm).

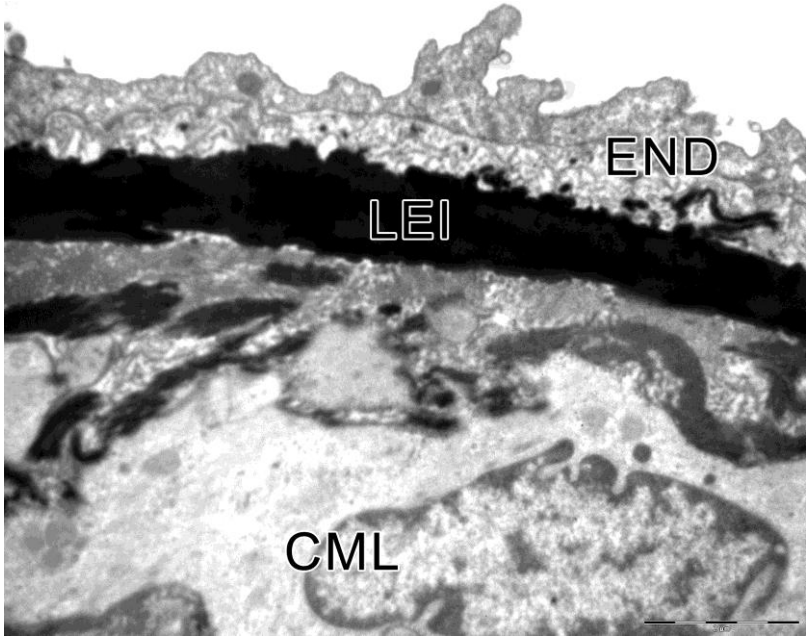


Figura 8. Micrografia eletrônica de parte da aorta do grupo C (controle não tratado). Observa-se próximo a célula endotelial (END) a lâmina elástica interna (LEI). Abaixo da lâmina elástica interna encontra-se parte da célula muscular lisa (CML) (barra, 02µm).

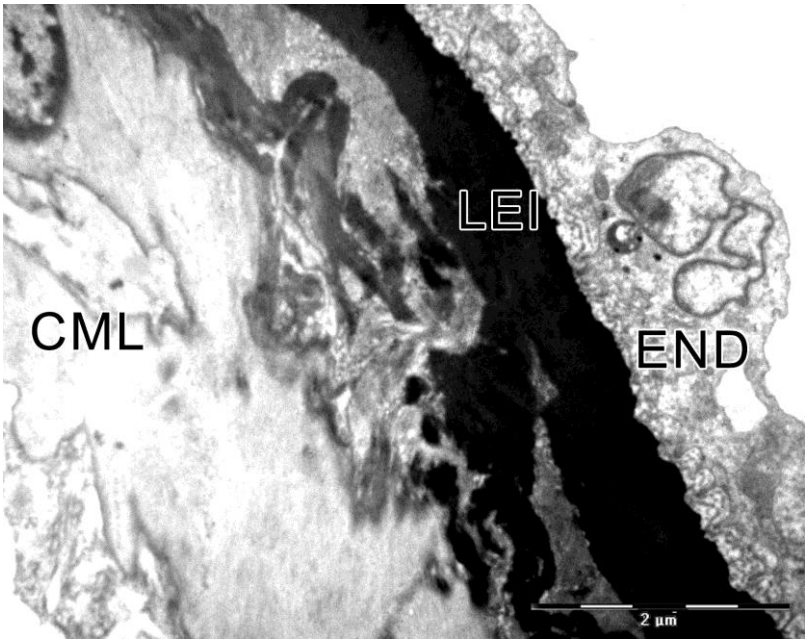


Figura 9. Micrografia eletrônica da aorta do grupo CR (controle tratado). Observamos a túnica íntima com a lâmina elástica interna (LEI), e célula endotelial (END) (barra: 02µm).

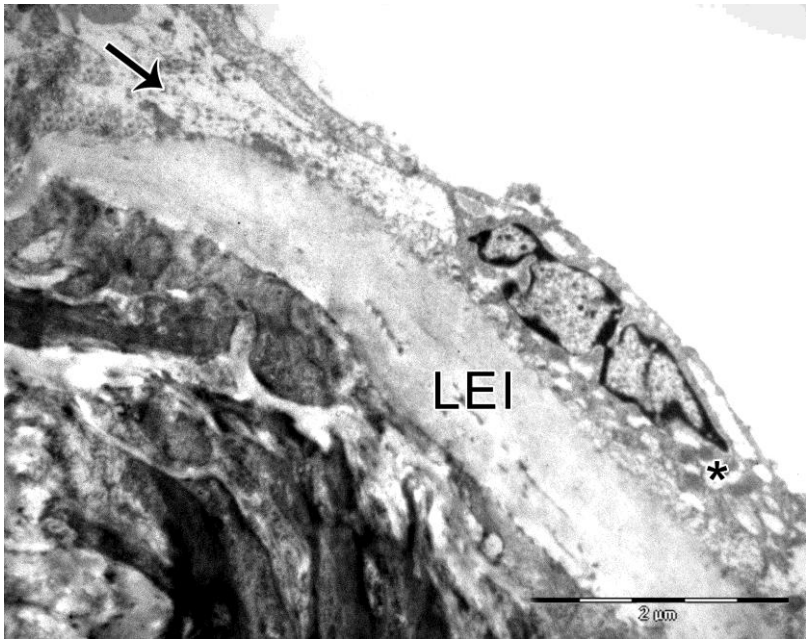


Figura 10. A micrografia eletrônica, ilustra parte de células endoteliais do grupo LNR (hipertenso tratado com Rosuvastatina) apresentando um grande número de pequenas vesículas citoplasmáticas (*), contorno citoplasmático e nuclear irregulares e lâmina elástica interna bem preservada (LEI). Observam-se componentes da matriz extracelular no espaço sub-endotelial (seta). (barra: 02µm).

4 DISCUSSÃO

A administração de Rosuvastatina a animais deficientes em NO provou ter efeitos benéficos sobre a PA, remodelamento estrutural da parede da aorta e proteção das artérias quando a síntese de NO é prejudicada ou quando o endotélio é alterado por muitas doenças (Hornig e Drexler 2001). No processo de envelhecimento, por exemplo, uma redução da atividade da eNOS poderia explicar o dano da resposta hipotensiva dependente do endotélio, associado com ratos idosos (Cernadas, Sanchez de Miguel et al. 1998).

O bloqueio da síntese de NO induz o aumento da pressão sanguínea dependente do tempo que leva a injúria cardiovascular (Pereira, Vianna et al. 1998; Rossi e Colombini-Netto 2001; Pereira, Bezerra et al. 2004). A injúria endotelial contribui para o início do processo aterogênico (Davignon 2004) e serve como um indicador confiável da inibição da síntese do NO (Rossi e Colombini-Netto 2001).

A eNOS e a endotelina são reguladas pela via da HMG-CoA redutase. As estatinas inibem a expressão de mRNA na produção de pré-pró-endotelina -1 e promove a diminuição da síntese de endotelina, que, por sua vez, provoca vasoconstrição e proliferação das CMLV (Alvarez-de-Sotomayor, Perez-Guerrero et al. 1999; Álvarez 1999)). A angiotensina II induz a produção de NO vascular através de receptores endoteliais AT (1) e AT (2) , o que pode ser benéfico em equilibrar os efeitos vasoconstrictores nas CMLV (Bayraktutan 2003).

No presente estudo, os animais deficientes em NO tratados com Rosuvastatina mostraram redução significativa da PA, e redução dos níveis de triglicerídeos plasmáticos sem afetar os níveis de HDL-colesterol. Esses resultados também foram relatados em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) tratados com Sinvastatina e Pravastatina (Bezerra e Mandarim-de-Lacerda 2005). Isto pode estar associado com a ação das estatinas na diminuição da atividade enzimática que faz a conversão da angiotensina plasmática, provavelmente pela redução da peroxidação lipídica, independente da ação hipolipemiante das estatinas (Alvarez-de-Sotomayor, Perez-Guerrero et al. 1999). Outros mecanismos independentes dos efeitos redutores de lípidos, incluindo a atividade antioxidante e alterações no desenvolvimento de aterosclerose vascular, também podem estar relacionados aos efeitos benéficos das estatinas.

Outro importante efeito parece ocorrer através da interação do NO com o ânion superóxido, formando peroxinitrito e subseqüentemente provocando a disfunção das células endoteliais (Cuzzocrea, Mazzon et al. 2004).

Além de seus efeitos redutores de colesterol, as estatinas também possuem amplas propriedades imunomoduladora e anti-inflamatória. As células endoteliais vasculares têm um papel crucial na patogênese da doença inflamatória, e, juntamente com leucócitos e células antigênicas, representam um alvo celular chave na terapia com estatinas (Greenwood e Mason 2007). Estatinas podem inverter o equilíbrio entre o crescimento e a apoptose das CMLV durante o remodelamento vascular, quando a inibição da proliferação, hipertrofia e migração destas células ocorrem e facilitam a apoptose. Além disso, a Rosuvastatina modula mudanças no fenótipo de CMLV e subseqüentemente sua proliferação e migração, indicando uma importante participação do receptor uroquinase neste processo (Kiyan, Kusch et al. 2007). O efeito terapêutico das estatinas pode ser atribuído, em parte, a esta ação sobre o endotélio, aumentando a produção de eNOS e a atividade fibrinolítica, diminuindo a adesão leucocitária e a transmigração, e aumentando a resistência para estimular a injúria local. Muitos destes efeitos são conseqüentes da modulação e de pouca função de GTPase e regulação negativa da expressão do gene pro-inflamatório (Greenwood e Mason 2007).

Os animais deficientes em NO apresentaram um espessamento da túnica média da aorta, o que está de acordo com a literatura (Babal, Pechanova et al. 1997; Bernatova, Pechanova et al. 1999; Rossi e Colombini-Netto 2001; Pereira, Bezerra et al. 2004), ocorrendo provavelmente devido à associação entre hipertensão e o estiramento causado pelo aumento da TCP (Prado e Rossi 2006). Presentes achados indicam que a hipertensão devido ao bloqueio de NO produz um espessamento tanto na túnica intima quanto na túnica média da aorta devido à elevada TCP associado a um ET normal. No entanto, quando esses animais foram tratados com Rosuvastatina, a parede da aorta não diferiu significativamente. Quando a tensão de repouso é baixa, a acetilcolina (Ach) mobiliza o “pool” de NO, que sinérgicamente com metabólitos derivados da COX podem relaxar fibras pré contraídas. A inibição da COX regula a via metabólica da lipoxigenase, significando o efeito contrátil da ACh. Na tensão intermediária de repouso, a produção de NO está presente, porém a inibição da COX revela uma inibição da lipoxigenase dependente e contração induzida pela ACh. Na alta tensão de repouso, a síntese

de NO predomina e metabólitos da COX influenciam marginalmente o relaxamento induzido pela ACh (Franchi-Micheli, Failli et al. 2000)

5 CONCLUSÃO

A administração de Rosuvastatina a animais deficientes em NO provocado pela administração crônica de L-NAME durante cinco semanas provou ter efeitos benéficos na pressão sanguínea, melhorando a disfunção endotelial, e atenuando o remodelamento adverso estrutural da parede da aorta.

REFERÊNCIAS

Alvarez-de-Sotomayor, M., C. Perez-Guerrero, et al.. "Effects of chronic treatment with simvastatin on endothelial dysfunction in spontaneously hyperte sive rats." J Hypertens 1999 17(6): 769-76.

Álvarez, d. S., M; Herrera, M.D.; Pérez-Guerrero, C.; Marhuenda, E."Interés terapéutico de las estatinas en el tratamiento de la aterosclerosis." Ars Pharmaceutica 1999 40(4): 217-231.

Babal, P., O. Pechanova, et al. "Chronic inhibition of NO synthesis pro-duces myocardial fibrosis and arterial media hyperplasia." Histol Histopathol 1997 12(3): 623-9.

Baddeley, A. J., H. J. Gundersen, et al. "Estimation of surface area from vertical sections." J Microsc 1986 142(3): 259-76.

Bayraktutan, U."Effects of angiotensin II on nitric oxide generation in growing and resting rat aortic endothelial cells." J Hypertens 2003 21(11): 2093-101.

Belay, B., P. F. Belamarich, et al. "The use of statins in pediatrics: knowledge base, limitations, and future directions." Pediatrics 2007 119(2): 370-80.

Bernatova, I., O. Pechanova, et al. "Mechanism of structural remodelling of the rat aorta during long-term NG-nitro-L-arginine methyl ester treatment." Jpn J Pharmacol 1999 81(1): 99-106.

Bezerra, D. G. and C. A. Mandarim-de-Lacerda. "Beneficial effect of simvastatin and pravastatin treatment on adverse cardiac remodelling and glomeruli loss in spontaneously hypertensive rats." Clin Sci (Lond) 2005 108(4): 349-55.

Brown, M. S., J. R. Faust, et al. "Induction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML 236B), a competitive inhibitor of the reductase." J Biol Chem 1978 253(4): 1121-8.

Brown, M. S. and J. L. Goldstein. "A receptor-mediated pathway for chole terol homeostasis." Science 1986 232(4746): 34-47.

Carallo, C., C. Irace, et al. "Evaluation of common carotid hemodynamic forces. Relations with wall thickening." Hypertension 1999 34(2): 217-21.

Carson, F. L., J. H. Martin, et al. "Formalin fixation for electron microscopy: a re-evaluation." Am J Clin Pathol 1973 59(3): 365-73.

Cernadas, M. R., L. Sanchez de Miguel, et al. "Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats." Circ Res 1998 83(3): 279-86.

Chong, P. H., J. D. Seeger, et al. "Clinically relevant differences between the statins: implications for therapeutic selection." Am J Med 2001 111(5): 390-400.

Cotta-Pereira, G. and M. L. Iruela-Arispe. "Extracellular matrix: functional significance of oxytalan, elaunin and elastic fibers." Prog Clin Biol Res 1989 295: 101-7.

Cuzzocrea, S., E. Mazzon, et al. "Superoxide: a key player in hypertesion." Faseb J 2004 18(1): 94-101.

Davignon, J. "Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins." Circulation 2004 109(23 Suppl 1): III39-43.

Davignon, J. and P. Ganz. "Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis." Circulation 2004 109(23 Suppl 1): III27-32.

Franchi-Micheli, S., P. Failli, et al. "Mechanical stretch reveals different components of endothelial-mediated vascular tone in rat aortic strips." Br J Pharmacol 2000 131(7): 1355-62.

Fullmer, H. M. and R. D. Lillie. "A selective stain for elastic tissue (orcinol new fuchsin)." Stain Technol 1956 31(1): 27-9.

Ge, C. J., S. J. Hu, et al. "Effects of atorvastatin on vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats." J Zhejiang Univ Sci 2003 4(5): 612-5.

Girerd, X. and P. Giral. "Risk stratification for the prevention of cardiovasc lar complications of hypertension." Curr Med Res Opin 2004 20(7): 1137-42.

Greenwood, J. and J. C. Mason. "Statins and the vascular endothelial inflammatory response." Trends Immunol 2007 28(2): 88-98.

Hebert, P. R., J. M. Gaziano, et al. "Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality. An overview of randomized trials." Jama 1997 278(4):313-21.

Hornig, B. and H. Drexler. "Reversal of endothelial dysfunction in humans." Coron Artery Dis 2001 12(6): 463-73.

Ii, M. and D. W. Losordo. "Statins and the endothelium." Vascul Pharma cology" 2007 46(1): 1-9.

Kielty, C. M., M. J. Sherratt, et al. "Elastic fibres." J Cell Sci 2002115(Pt 14):2817-28.

Kiyan, J., A. Kusch, et al. "Rosuvastatin regulates vascular smooth muscle cell phenotypic modulation in vascular remodeling: role for the urokinase receptor." Atherosclerosis 2002 195(2): 254-61.

Koh, K. K. "Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, infla mation, and plaque stability." Cardiovasc Res 2000 47(4): 648-57.

Koh, K. K., M. J. Quon, et al. "Are statins effective for simultaneously trea- ing dyslipidemias and hypertension?" Atherosclerosis 2008 196(1): 1-8.

Kornbrust, D. J., J. S. MacDonald, et al."Toxicity of the HMG-coenzyme A reductase inhibitor, lovastatin, to rabbits." J Pharmacol Exp Ther 1989 248(2): 498-505.

Kuwahara, N., S. Sasaki, et al."HMG-CoA reductase inhibition improves anti-aging klotho protein expression and arteriosclerosis in rats with chronic inhibition of nitric oxide synthesis." Int J Cardiol 2008 123(2): 84-90.

Maron, D. J., S. Fazio, et al."Current perspectives on statins." Circulation 2000 101(2): 207-13.

Mayet, J. and A. Hughes (2003). "Cardiac and vascular pathophysiology in hype tension." Heart 2003 89(9): 1104-9.

McGown, C. C. and Z. L. Brookes. "Beneficial effects of statins on the mi- crocirculation during sepsis: the role of nitric oxide." Br J Anaesth 2007 98(2):163-75.

Milionis, H. J., E. N. Liberopoulos, et al. "Statins: another class of antihy pertensive agents?" J Hum Hypertens 2006 20(5): 320-35.

Monetti, M., M. Canavesi, et al. "Rosuvastatin displays anti- atherothrombotic and anti-inflammatory properties in apoE-deficient mice." Pharmacol Res 2007 55(5): 441-9.

Nicholls, S. J., E. M. Tuzcu, et al. "Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis." Jama 2007 297(5): 499-508.

Ott, C., M. P. Schlaich, et al. "Rosuvastatin improves basal nitric oxide ac- tivity of the renal vasculature in patients with hypercholesterolemia." Atherosclero sis 2007.

Pereira, L. M., D. G. Bezerra, et al. "Aortic wall remodeling in rats with ni- tric oxide deficiency treated by enalapril or verapamil." Pathol Res Pract (2004) 200(3): 211-7.

Pereira, L. M., G. M. Vianna, et al. "[Morphology and stereology of the my- ocardium in hypertensive rats. Correlation with the time of nitric oxide synthesis inhibition]." Arq Bras Cardiol 1998 70(6): 397-402.

Pereira, L. M. M., G. M. M. Vianna, et al. "Stereology of the myocardium in hypertensive rats. Differences in relation to the time of inhibition of nitric oxide synthesis." Virchows Archiv 1998 433(4): 369-373.

Prado, C. M. and M. A. Rossi. "Circumferential wall tension due to hypertension plays a pivotal role in aorta remodelling." Int J Exp Pathol 2006 87(6): 425-36.

Qin, H., T. Ishiwata, et al. "Effects of extracellular matrix on phenotype modulation and MAPK transduction of rat aortic smooth muscle cells in vitro." Exp Mol Pathol 2000 69(2): 79-90.

Ribeiro, M. O., E. Antunes, et al. "Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension." Hypertension 1992 20(3): 298-303.

Rossi, M. A. and M. Colombini-Netto. "Chronic inhibition of NO synthesis per se promotes structural intimal remodeling of the rat aorta." J Hypertens 2001 19(9): 1567-79.

Srinivasan, S. R., L. Myers, et al. "Changes in metabolic syndrome variables since childhood in prehypertensive and hypertensive subjects: the Bogalusa Heart Study." Hypertension 2006 48(1): 33-9.

Stancu, C. and A. Sima. "Statins: mechanism of action and effects." J Cell Mol Med 2001 5(4): 378-87.

Streuli, C. "Extracellular matrix remodelling and cellular differentiation." Curr Opin Cell Biol 1999 11(5): 634-40.

Taipale, J. and J. Keski-Oja. "Growth factors in the extracellular matrix." Faseb J 1997 11(1): 51-9.

Vaughan, C. J., A. M. Gotto, Jr., et al. "The evolving role of statins in the management of atherosclerosis." J Am Coll Cardiol 2000 35(1): 1-10.

Wang, C. Y., P. Y. Liu, et al. "Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results." Trends Mol Med 2008 14(1): 37-44.

Wiedmer, T., J. Zhao, et al. "Adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance in mice with targeted deletion of phospholipid scramblase 3 (PLSCR3)." Proc Natl Acad Sci U S A 2004 101(36): 13296-301.

Zhou, M. S., E. A. Jaimes, et al. "Atorvastatin prevents end-organ injury in salt-sensitive hypertension: role of eNOS and oxidant stress." Hypertension 2004 44(2): 186-90.

Zar JH. “Upper Saddle River: Prentice Hall” 1999.

ANEXO A - Protocolo Comissão de Ética da UERJ

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCÂNTARA GOMES
COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n° CEA/112/2006 sobre "*Rosuvastatina e remodelamento aórtico em ratos deficientes em óxido nítrico*" sob a responsabilidade de Rodrigo Neto Ferreira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (GOBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEA), em 07/12/2005. Este certificado expira em 07/12/2007.

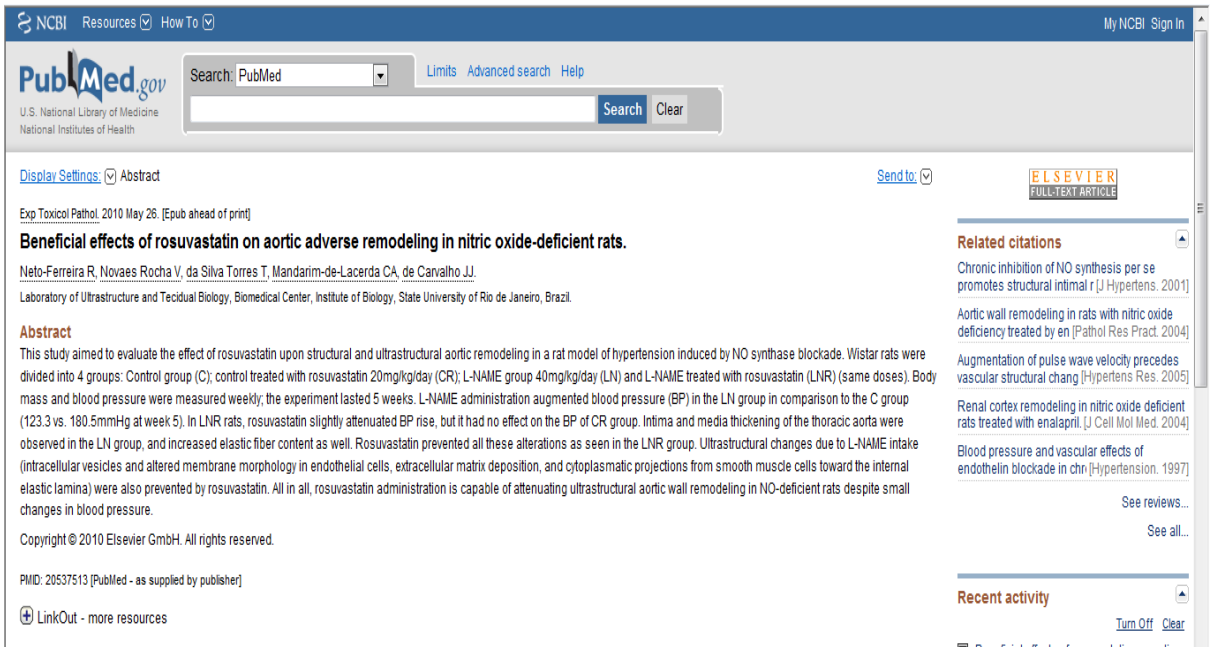
Prof. Antonio Carlos da Silva
Coordenador – CEA/IBRAG/UERJ

Antonio Carlos da Silva
Prof. Adjunto - Mat. 4592-2
DBCG - Inst. Biologia - UERJ

Rua Prof. Manoel de Abreu, 48 - Maracanã - CEP. 20 550-170 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Telefone 2587-6488

ANEXO B - Confirmação de submissão de artigo científico

Os resultados deste trabalho encontram-se sob a forma de artigo intitulado: “Beneficial effects of Rosuvastatin on aorta adverse remodeling in nitric oxide-deficient rats”. Submetido ao Experimental and Toxicologic Pathology encontrando-se em processo de publicação pela revista.



NCBI Resources How To My NCBI Sign In

PubMed.gov
U.S. National Library of Medicine
National Institutes of Health

Search: PubMed Limits Advanced search Help
Search Clear

Display Settings: Abstract Send to:

ELSEVIER FULL-TEXT ARTICLE

Exp Toxicol Pathol. 2010 May 26. [Epub ahead of print]

Beneficial effects of rosuvastatin on aortic adverse remodeling in nitric oxide-deficient rats.

Neto-Ferreira R, Novaes Rocha V, da Silva Torres T, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ.

Laboratory of Ultrastructure and Tecidual Biology, Biomedical Center, Institute of Biology, State University of Rio de Janeiro, Brazil.

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of rosuvastatin upon structural and ultrastructural aortic remodeling in a rat model of hypertension induced by NO synthase blockade. Wistar rats were divided into 4 groups: Control group (C); control treated with rosuvastatin 20mg/kg/day (CR); L-NAME group 40mg/kg/day (LN) and L-NAME treated with rosuvastatin (LNR) (same doses). Body mass and blood pressure were measured weekly; the experiment lasted 5 weeks. L-NAME administration augmented blood pressure (BP) in the LN group in comparison to the C group (123.3 vs. 180.5mmHg at week 5). In LNR rats, rosuvastatin slightly attenuated BP rise, but it had no effect on the BP of CR group. Intima and media thickening of the thoracic aorta were observed in the LN group, and increased elastic fiber content as well. Rosuvastatin prevented all these alterations as seen in the LNR group. Ultrastructural changes due to L-NAME intake (intracellular vesicles and altered membrane morphology in endothelial cells, extracellular matrix deposition, and cytoplasmatic projections from smooth muscle cells toward the internal elastic lamina) were also prevented by rosuvastatin. All in all, rosuvastatin administration is capable of attenuating ultrastructural aortic wall remodeling in NO-deficient rats despite small changes in blood pressure.

Copyright © 2010 Elsevier GmbH. All rights reserved.

PMID: 20537513 [PubMed - as supplied by publisher]

LinkOut - more resources

Related citations

Chronic inhibition of NO synthesis per se promotes structural intimal r [J Hypertens. 2001]

Aortic wall remodeling in rats with nitric oxide deficiency treated by en [Pathol Res Pract. 2004]

Augmentation of pulse wave velocity precedes vascular structural chang [Hypertens Res. 2005]

Renal cortex remodeling in nitric oxide deficient rats treated with enalapril. [J Cell Mol Med. 2004]

Blood pressure and vascular effects of endothelin blockade in chr [Hypertension. 1997]

See reviews...

See all...

Recent activity

Turn Off Clear