

A HIPERTENSÃO ARTERIAL E A HIPERTROFIA CARDÍACA COM ÊNFASE NO USO EXPERIMENTAL DE BLOQUEADORES DA SÍNTESE DO ÓXIDO NÍTRICO: UMA BREVE REVISÃO

Ricardo Xavier-Vidal* e Kalil Madi*

RESUMO. A hipertensão é uma doença freqüente nos modernos países industrializados. No homem, a hipertensão arterial é um dos mais importantes fatores de risco cardiovascular. No Brasil, a primeira causa de mortalidade são as doenças cardiovasculares, representando cerca de 30.8% de todos os óbitos. Estudos conduzidos ao longo de 30 anos em Framingham, Massachussets, têm convincentemente demonstrado que a hipertensão arterial é o mais importante fator etiológico associado com o aparecimento da falha cardíaca sintomática, sendo a hipertrofia ventricular esquerda o principal fator de risco. A hipertrofia cardíaca também está associada a várias formas de arritmias e é um fator de risco da morte súbita cardíaca. A taquicardia e a fibrilação ventriculares são arritmias ventriculares letais e ainda que, somente nos Estados Unidos da América tenham sido a causa de cerca de 400 mil óbitos por ano, ainda hoje não se sabe muito a respeito dos mecanismos das arritmias ventriculares em pacientes com cardiomiopatias. O óxido nítrico (NO) é um vaso-dilatador liberado pelo endotélio e está relacionado pelo menos com alguns casos de hipertensão arterial no ser humano. O L-Name, N^W-nitro-arginina-metil-ester (que é um análogo e antagonista do aminoácido L-Arginina, a partir do qual o óxido nítrico é sintetizado), bloqueia a síntese do óxido nítrico necessário para a manutenção da pressão arterial normal. As cardiomiopatias constituem um grupo de doenças, freqüentemente de etiologia desconhecida, nas quais o acometimento do músculo cardíaco é a característica dominante. Dentre as várias classificações existentes, a mais amplamente utilizada é a da Organização Mundial de Saúde, segundo a qual o termo cardiomiopatia fica restrito às doenças do músculo cardíaco de causa desconhecida. A hipertensão induzida por L-Name pode ser um modelo experimental utilizado para o estudo das cardiomiopatias e maiores estudos devem ser efetuados para identificar a similaridade dos eventos ocorridos durante

* Laboratório de Anatomia Patológica, IPPMG (PEDIATRIA), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, C.P. 68002, Tel/Fax: 590-3842, 21944-970, Rio de Janeiro-Rio de Janeiro, Brasil.

Correspondência para Ricardo Xavier-Vidal.

Data de recebimento: 13/02/97.

Data de aceite: 31/05/97.

a hipertensão com L-Name de forma a compará-los com os das cardiomiopatias. O objetivo desta revisão é relacionar sumariamente alguns aspectos das pesquisas científicas, incluindo as produzidas em nosso laboratório, relacionadas à experimentação animal da hipertensão arterial com ênfase no modelo L-Name.

Palavras chave: óxido nítrico, L-Name, hipertensão arterial, hipertrofia cardíaca, coração.

ARTERIAL HYPERTENSION AND CARDIAC HYPERTROPHY EMPHASIZING THE EXPERIMENTAL USE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BUFFER: A BRIEF SURVEY

ABSTRACT. The hypertension is a frequent disorder in modern industrial countries. In men, the arterial hypertension has been identified as one of the most important risk factors in cardiovascular diseases. In Brazil, the first causes of mortality are the cardiovascular diseases, representing about 30.8% of the total deaths. A study conducted over 30 years in Framingham, Massachusetts, has convincingly demonstrated that arterial hypertension is the most important etiologic factor associated with the appearance of symptomatic heart failure, being left ventricular hypertrophy the major risk factor. The ventricular hypertrophy is also associated with various forms of arrhythmias and is a risk factor of cardiac sudden death. The tachycardia and ventricular fibrillation are lethal arrhythmias and were estimated to cause approximately 400,000 deaths per year in the United States, but the knowledge of the mechanisms involving the ventricular arrhythmias in patients with cardiomyopathy is still weak. The nitric oxide (NO) is an endothelium vasorelaxing factor and is related with at least few cases of arterial hypertension in humans. The L-Name, N^W -nitro-Arginine-methyl-ester (analog and antagonist of the aminoacid L-Arginine, from which the NO is produced), interrupt the NO synthesis necessary to maintenance the normal arterial pressure. The cardiomyopathies are composed of a group of diseases, with frequently unknown etiology, in which the involvement of the cardiac muscle is the dominant characteristic. The classification of the World Health Organization is the most utilized to classify the cardiomyopathies. In this classification the term cardiomyopathy is restricted to the muscular cardiac disease of unknown origin. The hypertension induced by the use of L-Name may be an experimental model to be utilized in the study of the cardiomyopathy but further studies must be carried on to identify the similarity of events that occur during this hypertension and compare them to the cardiomyopathies. The aim of this brief review is to summarize some researches, including that produced in our laboratory, related to the arterial hypertension in experimental animals with emphasis on L-Name model.

Key words: nitric oxide, L-Name, arterial hypertension, cardiac hypertrophy, heart.

A hipertensão é uma doença freqüente nos modernos países industrializados (Fischer *et al.*, 1992). No homem a hipertensão arterial, de várias origens, é um dos mais importantes fatores de risco cardiovascular afetando de 11 a 20% da população brasileira acima de 20 anos. Já em 1980, o Ministério da Saúde do Brasil identificava como a primeira causa de mortalidade no país as doenças cardiovasculares, representando 30.8% de todos os óbitos (Sousa *et al.*, 1992) e estes valores atualmente continuam a ser mantidos em níveis superiores aos 30%.

Cerca de 90 a 95% dos casos de hipertensão arterial são de origem idiopática e os restantes 5 a 10% ocorrem principalmente por efeito secundário de alguma doença renal, já que os rins desenvolvem importante função na regulação da pressão sangüínea total. Cerca de 5% dos doentes hipertensivos mostram um rápido aumento da pressão sangüínea o que se não for submetido a tratamento, leva a morte após 1 a 2 anos. A principal consequência da hipertensão consiste em alterações patológicas vasculares. A hipertensão acelera a aterosclerose e é um dos mais importantes fatores de risco para as doenças cardíacas coronarianas e acidentes cerebrovasculares, sendo um grave problema de saúde por três razões principais; primeiramente, por ser bastante comum, em segundo lugar por produzir amplas e por vezes devastadoras consequências, e, em terceiro, por se portar de forma assintomática até um estágio avançado de desenvolvimento. No homem, a manutenção da pressão diastólica acima de 90 mmHg ou da pressão sistólica que exceda a 140 mmHg são consideradas como constituindo hipertensão (Conran *et al.*, 1994). É também possível considerar uma faixa limitante de hipertensão para uma pressão sistólica superior a 140 e inferior a 160 mmHg e para uma pressão diastólica superior a 90 e inferior a 95 mmHg. Neste caso a hipertensão arterial passa a ser considerada apenas para valores acima de 160 mmHg para pressão sistólica e 95 mmHg para a diastólica (McGee *et al.*, 1992). É importante mencionar ainda que a prevalência da hipertensão aumente com a idade, a hipertensão arterial em adultos jovens tende a ser mais severa (Conran *et al.*, 1994).

A magnitude da pressão arterial depende de duas variáveis hemodinâmicas fundamentais: o débito cardíaco e a resistência periférica total. O débito cardíaco é dado pela freqüência cardíaca (em batimentos por minuto) multiplicada pela ejeção ventricular esquerda (em mililitros).

A resistência periférica total é principalmente explicada através da resistência das arteríolas, que está relacionada predominantemente com o diâmetro do seu lumen. Atualmente são identificados vários agentes vasoconstritores (que reduzem o lumen das arteríolas) como a angiotensina II, catecolaminas, tromboxane, leucotrienos e endotelina, que produzem elevação da pressão arterial do indivíduo. Entre os agentes vasodilatadores (que aumentam o lumen das arteríolas), estão incluídos a quinina, as prostaglandinas e o *óxido nítrico*. Estes mediadores agem ligando-se a receptores específicos na superfície das células musculares lisas. Certos produtos metabólicos (como o ácido láctico, o H^+ e a adenosina) e a hipoxia são também vasodilatadores locais (Contran *et al.*, 1994, Murray *et al.*, 1993).

Estudos conduzidos ao longo de 30 anos em Framingham (Massachusetts) têm convincentemente demonstrado que a hipertensão arterial é o mais importante fator etiológico associado com o aparecimento da falha cardíaca sintomática, e a hipertrofia ventricular esquerda é o principal fator de risco (Brilla *et al.*, 1993). A hipertrofia cardíaca é a adaptação fisiológica do coração às sobrecargas mecânicas crônicas e as falhas cardíacas indicam o limite deste processo. Duas palavras são importantes no processo de adaptação; são elas: remodelamento e plasticidade (Molitor *et al.*, 1993).

A hipertrofia miocárdica tem sido estudada através de vários métodos experimentais de indução da hipertensão, tanto por métodos cirúrgicos, químicos, como por métodos que levam os animais a exercícios extremos (Mall *et al.*, 1990; Loud *et al.*, 1978, 1984; Bishop, 1990; Wenger *et al.*, 1990; Fischer, 1992; Ribeiro *et al.*, 1992; Moreno-Jr., 1994).

Na hipertrofia miocárdica por razão da hipertensão arterial, ocorre a chamada fibrose miocárdica que se dá principalmente por acúmulo de colágeno. A fibrose pode ocorrer entre os miócitos cardíacos, sendo então denominada de “fibrose reativa”, ou, pode ocorrer secundariamente à necrose miocitária, sendo então denominada de “fibrose reparativa” ou de “cicatrização”. A fibrose reativa se desenvolve inicialmente no interior do interstício pré-existente após cerca de 4 semanas de hipertensão renovascular. Com 12 semanas, fibroses reparativas secundárias à necrose miocitária aparecem predominantemente no endomiocárdio do rato (Brilla *et al.*, 1993). Durante a hipertrofia cardíaca, no remodelamento do interstício cardíaco, também ocorre uma acumulação anormal do colágeno fibrilar com

espessamento da adventícia das artérias coronárias intramiocárdicas (Weber e Brilla, 1991).

Na doença cardíaca hipertensiva, a heterogenicidade na estrutura miocárdica explica o aparecimento da disfunção sistólica e/ou diastólica do ventrículo esquerdo que leva à falha cardíaca sintomática. Esta heterogeneidade é produzida pelo comportamento de não-miócitos e particularmente dos fibroblastos cardíacos os quais são responsáveis pela síntese e degradação de colágeno. O principal determinante da disfunção diastólica (aumento patológico da rigidez do músculo cardíaco) é o componente tecidual com firme resistência tênsil, que é a matriz de colágeno do miocárdio. As principais proteínas estruturais do interstício miocárdico são os colágenos tipo I e tipo III. O colágeno tipo I se apresenta usualmente na forma de fibras espessas possuindo maior resistência à tensão, assim, sua concentração determina o enrigecimento tecidual do miocárdio. O colágeno tipo I é encontrado em proporções que variam de 70 a 82% em ratos e macacos, respectivamente. Assim, a origem da falha cardíaca na hipertensão arterial com disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, parece estar enraizada no remodelamento estrutural do miocárdio e particularmente com o desenvolvimento da fibrose miocárdica (Brilla *et al.*, 1993). O termo “doença intersticial cardíaca” (“interstitial heart disease”) tem sido proposto para denominar a doença do miocárdio, onde os miócitos são “simples espectadores” das alterações de remodelamento estrutural ou bioquímico do interstício, o que ocorre em certas ocasiões (Weber, 1992).

A hipertrofia cardíaca está associada a várias formas de arritmias e é um fator de risco da morte súbita cardíaca (Moliac *et al.*, 1993). A taquicardia e a fibrilação ventriculares são arritmias ventriculares letais e ainda que, somente nos Estados Unidos da América tenha sido a causa de cerca de 400 mil óbitos por ano, ainda hoje, não se sabe muito a respeito dos mecanismos das arritmias ventriculares em pacientes com cardiomiopatias. A morte súbita, em minutos ou horas após o infarto do miocárdio, é usualmente atribuída a anormalidades na eletrofisiologia celular causada pela isquemia. Contudo, na medida em que o infarto sofre cicatrização, o subsequente e persistente potencial arritmogênico emergente não é dependente primariamente do efeito da isquemia na eletrofisiologia celular, mas, antes, da alteração na estabilidade da estrutura tecidual fruto da fibrose reparativa pós-infarto (Saffitz, 1994).

Em resposta ao aumento da pressão, o ventrículo esquerdo entra em hipertrofia, a qual é usualmente concêntrica. O grau de hipertrofia é variável e pobremente relacionado com o grau de pressão. Em alguns indivíduos o coração pode dobrar o seu peso, contudo, em outros com o mesmo nível de pressão sanguínea pode ocorrer apenas uma ligeira hipertrofia ventricular esquerda mesmo após vários anos (McGee *et al.*, 1992).

O *óxido nítrico* é um vasodilatador liberado pelo endotélio e seu bloqueio causa hipertensão arterial (Ribeiro *et al.*, 1992; Xavier-Vidal, 1995) e hipertrofia cardíaca experimentais significativas (Xavier-Vidal, 1995). O *óxido nítrico* é produzido a partir de um aminoácido não essencial chamado de L-Arginina. A liberação contínua do *óxido nítrico* pelo endotélio dos vasos sanguíneos menos calibrosos é necessária para a manutenção da pressão arterial normal (Murray *et al.*, 1993). As conclusões relativas à existência e à ação do *óxido nítrico* datam da década de 80 e tiveram início com o trabalho de Furchgott e Zawadzki (1980), quando identificaram que a acetilcolina agia como vasoconstritor em algumas situações, enquanto que, em outras situações, agia como vasodilatador. Estes estudos levaram a descoberta de que a ação vasodilatadora da acetilcolina estava ligada diretamente ao endotélio e somente ocorria na presença do mesmo, e que havia a ocorrência de um fator relaxante derivado do endotélio, na ocasião chamado de endothelium-derived relaxing factor (EDRF) que atualmente se sabe é o *óxido nítrico*. A partir destes resultados, foi identificada a L-Arginina como o substrato do *óxido nítrico*, o qual era sintetizado sob a ação de uma enzima, a *óxido nítrico sintetase (NOS)* (Evora, 1991).

Os vasodilatadores como a Acetilcolina e a Bradicinina causam um relaxamento na musculatura lisa dos vasos sanguíneos, contudo, não agem diretamente sobre esta, mas, inicialmente interagem com as células endoteliais dos pequenos vasos sanguíneos via receptores. Os receptores estão acoplados ao ciclo do fosfoinositol liberando o cálcio intracelular através da ação do trifosfato de inositol. A elevação do cálcio ativa a NOS que leva à liberação do fator de relaxamento derivado do endotélio, o *óxido nítrico*. O *óxido nítrico* se difunde através da musculatura lisa e através da ação de certa proteína-Kinase cGMP-dependente, fosforiliza uma determinada proteína muscular causando relaxamento. Contudo, maiores detalhes sobre esta cascata ainda necessitam de esclarecimentos. Vale aqui salientar, que o trinitrato de gliceril, um importante

vasodilatador amplamente utilizado no alívio da angina pectoris age aumentando os níveis intracelulares de NO e assim de cGMP (Murray *et al.*, 1993).

Têm sido identificados dois tipos de síntese de óxido nítrico. Uma síntese de caráter fisiológico chamada de síntese constitutiva, e, outra, chamada de síntese indutiva, relativa à síntese por exemplo ocorrida durante a sepsis e endotoxemia que leva à produção profusa de óxido nítrico resultando em intensa vasodilatação (Avontuur *et al.*, 1995).

As notícias sobre o óxido nítrico são realmente boas notícias (Culotta e Koshland, 1992) porque esta é uma molécula simples e está envolvida em importantes processos de sinalização celular nos sistemas cardiovascular, nervoso e imunológico (Murray *et al.*, 1993). Além disso, Kolpakov *et al.* (1995) recentemente sugeriram que o óxido nítrico pode funcionar como um modulador da síntese protéica das células musculares lisas dos vasos sanguíneos e na produção dos componentes da matriz extracelular. Existe também referência de que o Óxido Nítrico seja produzido pelos próprios miócitos cardíacos (Brady *et al.*, 1992) e que também no miocárdio aja como fator relaxante (Sellke e Dai, 1993). Está também envolvido no recrutamento e migração celular de células inflamatórias e desenvolve um importante papel na indução química do Diabetes Mellitus em camundongos (Lukic *et al.*, 1991). Também se tem atribuído ação angiogênica ao óxido nítrico, quando a taxa de *suprimento/demanda de oxigênio* decresce e se mantém em níveis baixos insustentáveis no miocárdio ocorrendo, assim, a apoxia miocárdica (Granger *et al.*, 1994). Estes autores também comprovaram a ação do óxido nítrico na migração e proliferação de células coronarianas endoteliais venulares como ocorrendo ao menos em bovinos. Avonntur *et al.* (1995) sugerem que, em condições fisiológicas, o óxido nítrico desenvolve importante função na regulação da pressão sanguínea e na perfusão tecidual. Estes dados levam à interpretação de que o óxido nítrico desenvolve uma importante função na regulação do fluxo miocárdico. Yan *et al.* (1996), comenta que em resposta à lesão experimental da artéria carótida do rato há a indução da NOS na túnica arterial média, um dia após a lesão. A inibição da atividade da NOS aumenta a adesão plaquetária à superfície arterial lesada e reduz o fluxo sanguíneo local. Porém, já que a NOS foi encontrada em plaquetas, a administração sistêmica de L-Name, deve exercer um efeito generalizado na função plaquetária em adição a algum efeito da NOS vascular. Em

artérias íntegras de grande calibre, como a estudada por estes autores, não se têm identificado produção de NOS em células do músculo liso vascular, e, também a administração de L-Name não aumenta a adesão plaquetária.

Porém, como comenta Ross (1993), é interessante notar que, ainda que a formação do óxido nítrico pelo endotélio possa prevenir a agregação plaquetária e a adesão leucocitária, e promover a vasodilatação, a produção do óxido nítrico pode promover a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (ox LDL) com suas deletérias consequências, inclusive de dano endotelial.

Até 1990, a quantidade de trabalhos relativos ao envolvimento do óxido nítrico nas anormalidades digestivas foi muito reduzida. Contudo, atualmente, inúmeros artigos têm sugerido que o óxido nítrico é um importante mediador da função gastrointestinal, parecendo estar envolvido no relaxamento da musculatura lisa digestiva de todos os mamíferos até o momento estudados. Autores têm demonstrado que o óxido nítrico está relacionado com o desenvolvimento da estenose pilórica hipertrófica em crianças, por razão da ausência da síntese de óxido nítrico no tecido pilórico, o que levaria à hipertrofia do mesmo. Todavia, ainda se discute se as variações de sua produção são uma causa ou um efeito desta alteração. O óxido nítrico tem sido também identificado como atenuante, tanto da motilidade do intestino delgado, como da motilidade cólica e ainda, como possuidor de um efeito inibitório no tônus do esfíncter esofágico inferior. O óxido nítrico parece afetar a regulação do tônus da microvasculatura, a secreção e o metabolismo mucoso gástricos (Vanderwinden *et al.*, 1993).

Os inibidores químicos da NOS são atualmente considerados como interrompendo completamente a síntese do óxido nítrico. A administração de tais inibidores em mamíferos leva à vasoconstrição e à uma marcante elevação da pressão sangüínea, sugerindo que o óxido nítrico é de importância crucial na manutenção da pressão sangüínea *in vivo*. Dentre os inibidores químicos da síntese do óxido nítrico que têm sido muito utilizados nos estudos experimentais, o L-Name ocupa lugar de destaque. O L-Name, N^ω-nitro-arginina-metil-ester (que é análogo e antagonista do aminoácido L-Arginina, a partir do qual é produzido o óxido nítrico), quando ministrado via oral ou em dose intravenosa bloqueia a síntese do óxido nítrico produzindo hipertensão arterial experimental (Aisaka *et al.*, 1989; Rees *et al.*, 1989; Ribeiro *et al.*, 1992;

Sellke e Daí, 1993; Leão, 1993; Moreno-Jr. *et al.*, 1994; Xavier-Vidal, 1995). Contudo, esta hipertensão arterial experimental pode ser revertida pelo tratamento com algumas substâncias como o Captopril e o Losartan (Leão, 1993; Brilla *et al.*, 1993; Ribeiro *et al.*, 1992). Também a administração da L-Arginina (substrato do L-Name) em roedores tratados com L-Name, reverte esta hipertensão arterial experimental (Ress *et al.*, 1989).

Ribeiro e colaboradores (1992) observaram que os ratos submetidos ao L-Name por 4 a 6 semanas se apresentavam aparentemente saudáveis, contudo, ganhavam peso mais lentamente e várias anormalidades renais histológicas e hemodinâmicas foram identificadas. Estes autores identificaram uma elevação progressiva da pressão arterial média, alcançando aos 30 dias cerca de 168 mmHg, que é um valor bastante elevado já que os animais não submetidos (grupo controle) possuíam uma pressão arterial bem menor, cuja média aritmética situou-se em 108 mmHg. Também puderam identificar que a remoção do L-Name após 4 semanas de tratamento produziu um gradual declínio da pressão de 163 mmHg para 147 após a primeira semana para 121 mmHg duas semanas após a descontinuidade da administração. A administração de L-arginina (substrato do óxido nítrico) em ratos submetidos ao L-Name reduziu a pressão arterial em 26 mmHg, contudo, a L-Arginina não produziu efeito em ratos não submetidos ao L-Name. E como sugerem estes autores, já que a hipertensão não foi totalmente revertida pela infusão com L-Arginina, persiste a possibilidade de que a inibição do óxido nítrico deve produzir alguma outra alteração humoral e/ou estrutural que contribua para elevar a pressão sanguínea no modelo L-Name. O sistema renina-angiotensina parece exercer uma importante participação neste modelo. Ribeiro e colaboradores também observaram sistematicamente um marcante espessamento da parede de pequenas artérias e arteríolas nos animais hipertensos. O extremo espessamento da parede arteriolar com tendência a completa obliteração luminal foi encontrado em três ratos (27%). Além dessas alterações, os autores também identificaram necrose fibrinóide da parede arteriolar de arteríolas renais (Ribeiro *et al.*, 1992), o que é a principal marca histopatológica da hipertensão arterial maligna e que pode resultar, em regra, em pequenas áreas de infarto (McGee *et al.*, 1992).

Em nosso laboratório, com o uso do pletismógrafo (Zatz, 1990), temos confirmado os achados relativos ao aumento acentuado e

significativo da pressão arterial de animais submetidos ao L-Name. Usando a dosagem de cerca de 60 mg / Kg de peso corporal (concentração de 75mg/100ml), encontramos acentuada hipertensão arterial (*Tabela 01*). A Média total das pressões arteriais iniciais estimadas, incluindo tanto o grupo controle como o grupo a ser submetido ao L-Name, foi de 110.24 mmHg (EP= 1.26), com o valor mínimo situado em 90 mmHg e o valor máximo em 122 mmHg (n=45). Outro dos nossos resultados foi uma acentuada hipertrofia cardíaca (fruto do aumento do volume celular do miócito em cerca de 30%), quando comparamos as médias dos pesos cardíacos do grupo controle (0.86 gramas; erro padrão = 0.04) com aquelas do grupo hipertenso (1.25 gramas; erro padrão = 0.05) ($p < 0.001$). É provável que além dos 30% de aumento do volume celular, haja alguma contribuição, ainda que residual, do aumento da matriz extracelular por fibrose reativa. Vários animais não têm suportado a administração crônica de L-Name via oral por longos períodos, morrendo com até 23 dias de administração da substância. Após o início da administração estes animais menos resistentes perdem até cerca de 1/3 do seu peso inicial e morrem (Xavier-Vidal, 1995).

O método estereológico também nos foi de grande valia em nossos estudos relativos às alterações estruturais encontradas no miocárdio dos corações de nossos animais submetidos à hipertensão arterial experimental. A Estereologia é uma ciência relativamente nova e foi estruturada por um pequeno grupo de Biólogos e Matemáticos em 1961. Weibel (1979) define a Estereologia como um conjunto de métodos matemáticos que nos permitem estimar parâmetros tridimensionais a partir de medidas bidimensionais obtidas através de cortes (fatias) das estruturas em apreço. O método estereológico é importante para determinar variações estruturais e ultraestruturais, sejam elas variações fisiológicas (Weibel, 1979; Gundersen *et al.*, 1988 a-b; Cruz-Orive e Weibel, 1990; Atkins *et al.*, 1991; Vidal *et al.*, 1993; Xavier-Vidal e Mandarim-de-Lacerda, 1995; Mandarim-de-Lacerda *et al.*, 1995; Xavier-Vidal, 1995) ou variações anormais (Weibel, 1979; Loud *et al.*, 1978, 1984; Tosi *et al.*, 1982; Baak e Oort, 1983; Tosi e Leoncini, 1984; Porter e Bankston, 1987; Fischer *et al.*, 1992; Xavier-Vidal, 1995), que ocorram nos tecidos biológicos.

Atualmente, com o avanço dos equipamentos de microscopia a laser acoplados a equipamentos que utilizam softwares para tratamento de

imagens, como no caso do Confocal Laser, é possível fazermos observações em planos profundos nos tecidos sejam fixados ou vivos, com focos finos e precisos em um único plano. Estes equipamentos tornam os estudos morfométricos mais precisos, permitindo obter o foco em um único plano, tornando desprezível o efeito de superestimação das análises morfométricas estereológicas, o chamado Efeito Holmes (Weibel e Elias, 1967; Weibel 1979; Sterio 1984; Cruz-Orive e Weibel 1990; Gourdie *et al.*, 1991; Shiraishi *et al.*, 1993; Tekola *et al.*, 1994; Usson *et al.*, 1994).

Nossos resultados quantitativos estereológicos, relativos aos animais submetidos a 35 dias de hipertensão arterial experimental, têm demonstrado alteração quantitativa em vários parâmetros relativos aos componentes estruturais do tecido miocárdico esquerdo. Como, por exemplo, a ocorrência de aumento do volume celular, fibrose tanto reativa como reparativa (incluindo fibrose perivascular) e alteração do leito vascular com tendência a produzir uma adaptação da rede capilar de forma a compensar o suprimento sanguíneo por razão da hipertrofia miocárdica. A estereologia confirmou que o aumento do volume dos miócitos, cuja média se situou em 30,7% a partir do volume inicial, é o principal e mais importante fator do aumento total do volume cardíaco neste modelo. A Densidade Numérica, o número dos miócitos por mm^3 , sofreu uma redução significativa, o que confirma o aumento da fibrose reativa e principalmente reparativa através de análise numérica. É possível que uma análise mais apurada dos vasos sanguíneos revele alterações vasculares ainda mais significativas do que as por nós encontradas. Como nesse modelo parece não haver formação de obstruções clássicas no lumen vascular que leve ao infarto, acreditamos que as áreas de infarto do miocárdio que foram identificadas sejam fruto, tanto da redução do lumen vascular (especialmente das arteríolas), como também da degeneração vascular (Xavier-Vidal, 1995). É sabido que em alguns casos áreas de infarto podem ocorrer por razão de espasmos vasculares (Contran *et al.*, 1994). Quanto às áreas de fibrose reativa (perivascular e perimiocitária), é possível que o simples bloqueio na produção do óxido nítrico leve à intensificação da produção de colágeno e, assim, à formação desse tipo de fibrose (Kolpakov *et al.*, 1995). Nas lâminas em que predominavam as fibroses reparativas, pudemos identificar na maioria das áreas apenas uma discreta infiltração celular, talvez por serem áreas de reparo já antigas. Contudo, resultados semelhantes têm sido identificados por outros autores, já que animais

tratados com inibidores da síntese do óxido nítrico têm demonstrado pequena ou nenhuma infiltração de certas células inflamatórias (Lukic *et al.*, 1991).

Com o uso de análises qualitativas histológicas, Fischer *et al.* (1992), induzindo hipertensão arterial através da estenose da artéria renal esquerda, demonstrou, nos animais hipertensos, uma fibrose intersticial e perivascular focal. Nos corações dos animais hipertensos, identificamos uma intensa fibrose perivascular com áreas de degeneração vascular (Xavier-Vidal, 1995). Durante a hipertrofia cardíaca, no remodelamento do interstício cardíaco, também ocorre um acúmulo anormal do colágeno fibrilar com espessamento da adventícia das artérias coronárias intramiocárdicas (Weber e Brilla, 1991). Os resultados de Fischer *et al.* (1992) relativos aos capilares cardíacos, levaram os autores a sugerirem que na hipertensão renovascular prolongada ocorre uma adaptação da rede capilar de forma a compensar quase completamente o aumento do volume dos miócitos. Quanto aos resultados quantitativos estereológicos, estes autores encontraram que a densidade volumétrica (Vv%) do interstício (excluindo capilares) dos animais hipertensos, apresentou diferença significativa quando comparados com o grupo controle ($p < 0.05$). Alterações semelhantes às encontradas por Fischer *et al.* (1992) foram identificadas no modelo L-Name (Xavier-Vidal, 1995).

A pressão sangüínea é, contudo, algo complexo e é determinada pela interação de múltiplos fatores genéticos e ambientais. Assim não deve ser surpresa que a patogênese da hipertensão permaneça um enigma (Contran *et al.*, 1994). A hipertensão arterial tem sido definida como um desarranjo hemodinâmico. Na maior parte dos casos, um aumento na resistência vascular é a característica hemodinâmica da doença hipertensiva e os mecanismos responsáveis por este aumento do tônus da musculatura lisa vascular estão implícitos na natureza multifatorial da doença (Froblich, 1994). Atualmente se tem estudado a influência fetal na ocorrência da hipertensão arterial no adulto. Por exemplo, a redução da enzima placentária 11 Beta-Hydroxiesteróide desidrogenase (11 Beta-HSD), não só reduz o peso do indivíduo ao nascimento, como também, vários meses após o tratamento prénatal com o inibidor experimental da enzima em roedores, produz uma prole adulta hipertensa (Seckl *et al.*, 1995). Em alguns países há grande variação na prevalência de hipertensão e esta prevalência é paralela à ingestão de sal que pode chegar a 400 mMol/dia. Nestas regiões a taxa de hipertensos pode chegar

a 40% da população, contudo, alguns autores comentam que ainda existe alguma controvérsia se uma dieta rica em sal causa hipertensão em humanos (McGee *et al.*, 1992). Também uma dieta com alta taxa de ingestão de sal produz hipertensão arterial experimental na maioria das espécies (Wenger, 1990; McGee, 1992). No caso das mulheres os hormônios sexuais parecem estar relacionados com a pressão arterial. O uso de contraceptivos orais hormonais antes da menopausa está associado a um aumento moderado da pressão sanguínea sistólica em 5 mmHg e diastólica em 3 mmHg (Khaw, 1996). Como também em humanos, o quadro hipertensivo pode, pelo menos em alguns casos, ser parcialmente revertido pela administração em excesso da L-Arginina em pacientes hipertensos. Este fato, demonstra que, ainda que a doença hipertensiva seja um evento multifatorial, pelo menos em alguns casos o óxido nítrico parece ter importante papel no processo hipertensivo em humanos (França, 1995).

As cardiomiopatias constituem um grupo de doenças, freqüentemente de etiologia desconhecida, nas quais o acometimento do músculo cardíaco é a característica dominante (Abelmann e Lorell, 1989). Devido ao avanço das técnicas diagnósticas bem como à conscientização crescente dos clínicos ao longo do tempo, as cardiomiopatias vêm sendo vistas como causa importante de morbidade e mortalidade, o que se reflete no aumento da incidência de seu reconhecimento (Codd *et al.*, 1989; Gillum, 1989). Dentre as várias classificações existentes a mais amplamente utilizada é a da Organização Mundial de Saúde, segundo as quais o termo cardiomiopatia fica restrito às doenças do músculo cardíaco de causa desconhecida. A hipertensão induzida por L-Name pode ser um dos modelos experimentais utilizados para o estudo das cardiomiopatias e maiores estudos devem ser efetuados para identificar a similaridade dos eventos ocorridos durante a hipertensão via modelo L-Name, de forma a compará-los com os das cardiomiopatias e outras afecções, e, assim, auxiliar a desvendar mais um, ou alguns, dos véus que bloqueiam o avanço científico na área da saúde.

AGRADECIMENTOS

Esta revisão foi fruto da Dissertação de Mestrado em Patologia do autor, a qual foi orientada pelo Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda. O autor agradece ao CNPq por sua Bolsa de Aperfeiçoamento

Científico (IB/UERJ), a CAPES por suas Bolsas de Mestrado em Patologia (HUAP/UFF) e Doutorado em Morfologia (ICB/UFRJ), agradece aos Professores Waldemar Silva Costa, Christina Maeda Takiya e Roberto Lent, e, a CIC-HUCFF da UFRJ, que o têm apoiado em suas pesquisas. Agradece, ainda, o autor, ao Deus de sua vida cujo nome é Jesus Cristo e às Famílias Xavier e Vidal por todo o bem que lhe têm feito.

Tabela 1. Médias das pressões arteriais (mm Hg) de ratos Wistar submetidos ao L-Name em nosso laboratório. (Média / Erro Padrão).

	PA dos grupos Controle	Animais submetidos ao L-Name	
Dias			P
20	107.50 / 3.28 (max 120 / min 100) n = 6	159.29 / 1.81 (max 170 / min 150) n = 14	< 0,01
34	112.17 / 1.91 (max 120 / min 105) n = 6	186.92 / 2.24 (max 198 / min 175) n = 12	< 0,01
40	110.11 / 2.15 (max 123 / min 100) n = 9	175.64 / 3.19 (max 198 / min 160) n = 11	< 0,01

PA = pressão arterial

p = probabilidade da pressão arterial do grupo controle comparada com a do grupo submetido ao L-Name ser diferente de zero.

OBS.: As pressões arteriais registradas aos 20 e 34 dias foram obtidas de um mesmo grupo. A pressão aos 40 dias foi obtida de um grupo diferente daquele de onde foram obtidas as pressões aos 20 e 34 dias. Notar que a pressão aos 40 dias se mostrou um pouco menor que aquela aos 34 dias, já que as menores pressões individuais do grupo de 40 dias foram inferiores (mínimo de 160 mmHg) àquelas encontradas no grupo de onde foram obtidas as pressões arteriais aos 34 dias (mínimo de 175 mmHg). Alguns animais morreram durante o experimento, o que se deu a partir do 23º dia de submissão ao L-Name.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELMANN, W.H. & LORELL, B.H. The challenge of cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 13:1219, 1989.
- AISAKA, K., GROSS, S.S., GRIFFITH, O.W. & LEVI, R. N^G-methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 160: 881, 1989.
- ATKINS, D.L., ROSENTAL, J.K. & KRUMM JR., M.W.J. Application of stereological analysis of cell volume[nu] to isolated myocytes in culture with and without adrenergic innervation. *Anat. Rec.*, 231: 209-217, 1991.

- AVONTUUR, J.A.M., BRUINING, H.A. & INCE, C. Inhibition of nitric oxide synthesis causes myocardial ischemia in endotoxemic rats. *Circ. Res.*, 76(3):418-425, 1995.
- BAAK, J.P.A. & OORT, J. *A manual of morphometry in diagnostic pathology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1983.
- BISHOP, S.P. The myocardial cell: normal growth, cardiac hypertrophy and response to injury. *Toxicol. Pathol.*, 18(4):438-453, 1990.
- BRADY, A.J.B., POOLE-WILSON, P.A., HARDING, S.E. & WARREN, J.B. Nitric oxide production with cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia. *Am. J. Physiol.*, 263(32):1963-1966, 1992.
- BRILLA, C.G., MAISCH, B. & WEBER, K.T. Renin-angiotensin system and myocardial collagen matrix remodeling in hypertensive heart disease: in vivo and in vitro studies on collagen matrix regulation. *Clin. Investig.*, 71:135-141, 1993.
- CODD, M.B., SURGRUE, D.D., GERSH, B.J. & MELTORE, L.J. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 80:564, 1989.
- CONTRAN, R.S., KUMAR, V. & ROBBINS, S.L. *Robbins: pathologic basis of disease*. 5th edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. 1400 p.
- CRUZ-ORIVE, L.M. & WEIBEL, E.W. Recent stereological methods for cell biology: a brief survey. *Am. J. Physiol.*, 258:148-156, 1990.
- CULOTTA, E. & KOSHLAND, D.E. NO news is good news. *Science*, 258:1862-1865, 1992.
- EVORA, P.R.B., PEARSON, P.J. & SCHAFF, H.V. Impaired endothelium-dependent relaxation to sodium fluoride following coronary reperfusion: evidence for G-protein dysfunction. *Circulation*, 84(suppl. II):275, 1991.
- FISCHER, M., WIEST, G., TEKESIN, I., AMANN, K., MANN, K., HASSLACHER, C., DERKS, H. & MALL, G. Effects of combined renovascular hypertension and diabetes mellitus on myocardial cells, non-vascular interstitium and capillaries: a stereological study on rat hearts. *Virchows Archiv. A*, 420:499-506, 1992.
- FRANÇA, M.F. *Efeitos da L-arginina por via endovenosa sobre a pressão arterial sistema renina-angiotensina, hemodinâmica renal e excreção de sódio em hipertensos essenciais*. Rio de Janeiro, 1995. 121 p. Dissertação (Mestrado em Endocrinologia) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- FROBLICH, E.D. Pathophysiology of Systemic Arterial Hypertension. In: HURST, J.W. & SCHLANT. (eds) *The Heart*. New York: McGraw-Hill, 1994.
- FURCHGOTT, R.F., ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 228:373-376, 1980.
- GILLUM, R.F. The epidemiology of cardiomyopathy in the United States, In: ZIPES, D.D.P. & ROWLANDS, D.S. (ed.). *Progress in cardiology*. Philadelphia: Led and Febiger, 1989.
- GOURDIE, R.G., GREEN, C.R. & SEVERS, N.J. Gap junction distribution in adult mammalian myocardium revealed by an anti-peptide antibody and laser scanning confocal microscopy. *J. Cell Science*, 99:41-55, 1991.

- GRANGER, H.J., ZICHIE, M., HAWKER JR., J.R., MEININGER, C.J., CZISNY, L.E. & ZAWIEJA, D.C. Molecular and cellular basis of myocardial angiogenesis. *Cell. Mol. Biol. Res.*, 40(2):81-85, 1994.
- GUNDERSEN H.J.G., BENDTSEN T.F., KORBO L., MARCUSSEN, N., MOLLER, A., NIELSEN, K., MYENGAARD, J.R., PAKKENBERG, B., SORENSEN, F.B., VESTERBY, A. & WEST, M.J. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Microb. Imm. Scand.*, 96:379-394, 1988a.
- GUNDERSEN H.J.G., BAGGER P., BENDTSEN T.F., EVANS, S.M., KORBO, L., MARCUSSEN, N., MOLLER, A., NIELSEN, K., MYENGAARD, J.R., PAKKENBERG, B., SORENSEN, F.B., VESTERBY, A. & WEST, M.J. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Microb. Imm. Scand.*, 96:857-881, 1988b.
- KHAW, K.-T. Women, hormones and blood pressure. *Can. J. Cardiol.*, 12(suppl. D):9D-12D, 1996.
- KOLPAKOV, V., GORDON, D. & THOMAS, J.K. Nitric oxide-generating compounds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 76(2):305-309, 1995.
- LEÃO, M.C. *Efeito do captopril na hipertensão arterial e na resposta pressora induzida pelo L-Name (inibidor da síntese do óxido nítrico)*. Rio de Janeiro: UERJ, 1993. 86p. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- LOUD, A.V., ANVERSA, P., GIACOMELLI, F. & WIENER, J. Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension: I. determination of myocyte size. *Lab. Investig.*, 38(5):586, 1978.
- LOUD, A.V., BEGHI, C., OLIVETTI, G. & ANVERSA, P., Morphometry of right and left ventricular myocardium after strenuous exercise in preconditioned rats. *Lab. Investig.*, 51(1):104, 1984.
- LUKIC, M.L., STOSIC-GRUJICIC, S., OSTOJIC, N., CHAN, W.L. & LIEW, F.Y. Inhibition of nitric oxide generation affects the induction of diabetes by streptozocin in mice. *Biochem. Biophys. Res. Communic.*, 178(3):913-920, 1991.
- MALL, G., ZIMMER, G., BADEN, S. & MATTFELDT, T. Capillary neoformation in the rat heart - stereological studies on papillary muscles in hypertrophy and physiologic growth. *Basic Res. Cardiol.*, 85:531-540, 1990.
- MANDARIM-DE-LACERDA, C.A., SANTOS, M.B. & PESANHA, M.G. Quantitative study of the myocardium in human embryos. *Ann. Anat.*, 177:179-184, 1995.
- MCGEE, J.O'D., ISAACSON, P.G. & NICHOLAS, A.W. Oxford textbook of pathology; Pathology of Systems. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- MOLLIAC, J.-M., CHARLEMAGNE, D., MANSIER, P., CHEVALIER, B. & SWYNGHEDEAUW, B. Cardiac hypertrophy and failure - disease of adaptation: modification in membrane proteins provide a molecular basis for arrhythmogenicity. *Circulation*, 87(suplem. 4):21-26, 1993.

- MORENO-JR., H., METZE, K., BENTO, A.C., ANTUNES, E., ZATZ, R. & NUCCI, C. de. O grau de hipertrofia cardíaca induzida pela inibição da síntese de óxido nítrico não está relacionado com os níveis de pressão arterial. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Hipertensão*, 3, São Paulo, Anais... São Paulo: Sociedade Brasileira de Hipertensão, 1994.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. & RODWELL, V.W. *Harper's biochemistry*. London: Prentice-Hall International, 1993.
- PORTER, G.A. & BANKSTON, P.W. Myocardial capillaries in the fetal and the neonatal rat: A morphometric analysis of the maturing myocardial capillary bed. *Am. J. Anat.*, 179:108-115, 1987.
- REES, D.D., PALMER, R.M.J. & MONCADA, S. Role of the endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86:3375, 1989.
- RIBEIRO, M.O., ANTUNES, E., DE NUCCI, G., LOVISOLO, S.M. & ZATZ, R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*, 20:298, 1992.
- ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362: 801-809, 1993.
- SAFFITZ, J.E. Myocyte interconnection at gap junctions and the development of anatomic substrates of ventricular arrhythmias. *Cardiovasc. Pathol.*, 3:87-91, 1994.
- SECKL, J.R., BENEDIKTSSON, R., LINDSAY, R.S. & BROWN, R.W. Placental 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the programming of hypertension. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 55(5-6):447-455, 1995.
- SELLKE, F.W. & DAI, H.B. Responses of porcine epicardial venules to neurohumoral substances. *Cardiovasc. Res.*, 27(7):1326-1332, 1993.
- SHIRAIISHI, I., TAKAMATSU, T. & FUJITA, S. 3-D Observation of N-Cadherin expression during cardiac myofibrillogenesis of the chick embryo using a confocal laser scanning microscope. *Anat. Embryol.*, 102:102-115, 1993.
- SOUSA, A.L.L., JARDIM, P.C.B.V., MONEGO, E.T., RAIMUNDO, M.S., LOPES, K.E.M., COELHO, J., SANTOS, R., GONDIM, M.R., MARTINS, R. & DAHER, G.C.F. Uma experiência multiprofissional na abordagem ao paciente hipertenso. *Arq. Bras. Cardiol.*, 59(1):31-35, 1992.
- STERIO, D.C. The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J. Microsc.*, 134:127-136, 1984.
- TEKOLA, P., ZHU, Q. & BAAK, J.P.A. Confocal laser microscopy and processing for three-dimensional microscopy: technical principles and an application to breast cancer. *Human Pathol.*, 25(1):12-21, 1994.
- TOSI, P., KRAFT, R., LUZI, P., CINTORINO, M., FANKHAUSER, G., HESS, M.W. & COTTIER, H. Involution patterns of the cortical area as a function of age. *Clin. Exp. Immunol.*, 47:497-504, 1982.
- TOSI, P. & LEONCINI, L. Morphometry of lymphoid organs in health and disease. *Path. Res. Pract.*, 179:297-209, 1984.

- USSON, Y., PARAZZA, F., JOUK, P.-S. & MICHALOWICZ, G. Method for the study of the three-dimensional orientation of the nuclei of myocardial cells in fetal human heart by means of confocal scanning laser microscopy. *J. Microsc.*, 174(2):101-110, 1994.
- VANDERWINDEN, J.M., MAILLEUX, P. & SCHIFFMANN, S.N. Nitric oxide is (or is not) everywhere! *Gastroenterology*, 104(2):658-659, 1993.
- VIDAL, R.X., COSTA-NEVES, M., VILLAR, V.C., VIANNA, W. & MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Stereology of the myocardium in fetuses: quantitative study of structural changes in the last two trimesters of gestation. *Arq. Bras. Cardiol.*, 60:221-224, 1993.
- WEBER, K.T. & BRILLA, C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium; fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*, 83(6):1849-1850, 1991.
- WEBER, K.T. Cardiac interstitium: extracellular space of the myocardium. In: FOZZARD W. (ed.). *The heart and Cardiovascular System*. 2.ed. New York: Raven Press, 1992.
- WEIBEL, E.R. *Stereological Methods; Practical methods for biological morphometry*. London: Academic Press, 1979. v. 1.
- WEIBEL, E.R. & ELIAS, H. *Quantitative methods in morphology*. New York: Berlin: Springer-Verlag, 1967.
- WENGER, N.K., ALBERMANN, W.H. & ROBERTS, W.C. Cardiomyopathy and specific heart muscle disease. In: HURST, J.W. & SCHLANT. *The Heart*. 70.ed. New York: McGraw-Hill, 1990.
- XAVIER-VIDAL, R., COSTA-NEVES, M., VILLAR, V.C. & MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Allometric growth of the left ventricular myocardium in human fetuses of the second and third trimesters. *Biom. Res.*, 5(1):29-34, 1994.
- XAVIER-VIDAL, R. & MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Cardiomyocyte proliferation and hypertrophy in the human fetus: quantitative study of the myocyte nuclei. *Bull. de l'Assoc. Anatom.*, 79(246):27-31, 1995.
- XAVIER-VIDAL, R. *Alterações morfológicas do miocárdio devidas a hipertensão arterial induzida por inibidor da síntese do óxido nítrico*. Estudo experimental em ratos. Niterói, UFF, 1995. 97 p. Dissertação (Mestrado em Patologia, com área de concentração em Patologia Experimental) - Universidade Federal Fluminense.
- XAVIER-VIDAL, R. Multivariate analysis of the human heart during fetal development. *Biom. Res.*, 7(1):49-55, 1996.
- YAN, Z.-Q., YOKOTA, Z., HANG, W. & HANSON, G.K. Expression of inducible nitric oxide synthase inhibits platelet adhesion and restores blood flow in the injured artery. *Circ. Res.*, 79:38-44, 1996.
- ZATZ, R.A. Low-cost tail-cuff method for estimation of mean arterial pressure in conscious rats. *Lab. Anim. Sci.*, 42:198-201, 1990.