

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Respostas hemodinâmicas da angiotensina II periférica em  
ratos Fischer e Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a  
partir do desmame**

Giovana Lopes Aguiar

Ouro Preto

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Respostas hemodinâmicas da angiotensina II periférica em ratos Fischer e Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame**

Autora: Giovana Lopes Aguiar

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

Ouro Preto

2016

A282r

Aguiar, Giovana Lopes.

Respostas hemodinâmicas da angiotensina II periférica em ratos Fischer e Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame [manuscrito] / Giovana Lopes Aguiar. - 2017.

80f.: il.: color; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Angiotensina II. 2. Sobrecarga de sódio. 3. Hipertensão. I. Cardoso, Leonardo Máximo. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

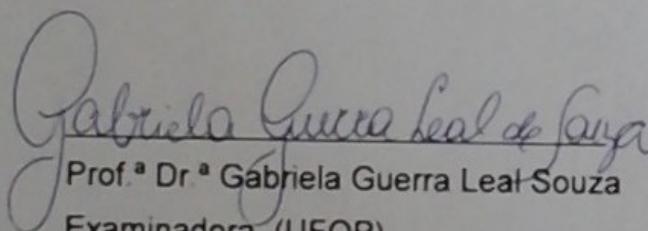
CDU: 577.12

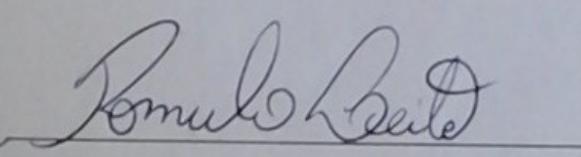
**Ata da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação Intitulada:**

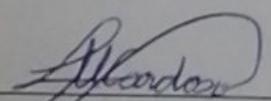
**“ Respostas hemodinâmicas da angiotensina II periférica em ratos Fischer e Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame”.**

Aos dezoito dias do mês de janeiro de 2017, às 14:00h, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação da aluna **Giovana Lopes Aguiar**. A defesa da dissertação iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por ..... *aprovar* ..... a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gabriela Guerra Leal Souza  
Examinadora (UFOP)

  
Prof. Dr. Rômulo Leite  
Examinador(UFOP)

  
Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso  
Presidente (UFOP)

**DATA DA DEFESA: 19/01/2017**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

NUPEB - Biocb1 / Universidade Federal de Ouro Preto Campus Universitário  
Morro do Cruzeiro / CEP 35.400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil Tel. 55 (31) 3559-1681  
E-mail: cbiolo@nupeb.ufop.br / www.nupeb.ufop.br/cbiol



Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular em parceria com o Laboratório de Hipertensão, ambos do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, com auxílio da CAPES, CNPq, FAPEMIG e UFOP.

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir”.

Cora Coralina

Dedico este trabalho à minha mãe, a pessoa mais importante na minha vida e que sempre esteve presente e me apoiando. À minha madrinha Iveta pelo seu amor e incentivo nos estudos. À minha avó Zezé, pelo amor incondicional e incentivo constante pela realização dos meus sonhos. Aos meus irmãos, Paulo Henrique e Natália, por todo amor e carinho.

## Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso, pela troca de conhecimentos desde a graduação como meu professor, e principalmente agora, nesses dois últimos anos na minha formação como pós-graduanda. Agradeço imensamente por ter me aceitado para orientação e ensinamentos científicos que tanto contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

A Profa. Dra. Lisandra Brandino de Oliveira, pelo apoio, auxílio, fornecimento de materiais, e troca de conhecimentos.

Aos professores Prof. Dr. Rômulo Leite e Prof. Dr.<sup>a</sup> Gabriela Guerra Leal Souza por gentilmente aceitarem compor a banca.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular: Paula, que sempre esteve presente em todos os momentos que precisei, Renato pela experiência de laboratório compartilhada, Milede, Andressa e Hellen pela amizade e companheirismo em todas as horas.

Aos amigos, Caio, Palitinho, Zabelê, Douglas, Mônica, Mari, pela amizade conquistada durante esses anos de convivência em Ouro Preto. Ao Luiz, Luiza e Leandro por estarem presentes nessa etapa tão importante da minha vida, deixando meus momentos mais suaves e alegres.

Aos colegas do NUPEB, especialmente Aline, Gabi, Claudiane, Maria Andreia e ao Laboratório de hipertensão por toda contribuição;

Ao Centro de Ciência Animal CCA/UFOP pelo fornecimento dos animais utilizados nesse trabalho.

Ao Laboratório de Nutrição Experimental ENUT/UFOP, em especial o Sr Jair pela ajuda, durante esses dois anos.

Ao Laboratório de Bioquímica Clínica, em especial o Sr. Nonot pela grande ajuda nas dosagens de sódio e potássio.

## Resumo

Neste trabalho investigamos os efeitos de uma dieta rica em sódio sobre a pressão arterial de repouso e as respostas cardiovasculares induzidas pela Angiotensina II (Ang II) injetada periféricamente em ratos da linhagem Fischer e Wistar. Os animais foram divididos em grupos controles que receberam 0,27% de sódio na dieta por 12 (FC12S, WC12S) e 15 (FC15S) semanas pós desmame e “high-sodium” que foram submetidos a sobrecarga de sódio (0,90%) na dieta por 12 (FHS12S, WHS12S) e 15 (FHS15S) semanas pós desmame. Um grupo de animais (FHS12SD3S) foi submetido à dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por dieta controle por mais 3 semanas. Quarenta e oito horas após a cirurgia de canulação, a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram registradas em ratos acordados. Alterações na PAM foram induzidas por injeções intravenosas de Ang II (12,5; 25; 50; 100; 200 e 400ng/kg) nos grupos FC12S, FHS12S e 12; 50; 200 e 400ng/kg nos grupos FC15S, FHS15S, WHS12S e WHS15S. Ratos Fischer não apresentaram aumento da pressão arterial quando comparados a Wistar ( $114 \pm 1,3$  mmHg (FHS12S) vs.  $125 \pm 1,3$  mmHg (WHS12S)). Em relação a FC, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (FC12S, FHS12S, FC15S, FHS15S, FHS12SD3S, WHS12S e WHS15S). A dieta com sobrecarga de sódio não alterou a sensibilidade de ratos Fischer e Wistar à Ang II exógena. As concentrações séricas de creatinina e ureia não foram alteradas com a sobrecarga de sódio nos grupos FHS12SS e FHS15S, entretanto, teve uma diminuição no grupo FHS12SD3S. O nível sérico de albumina foi alterado em ratos Fischer submetidos a dieta com sobrecarga de sódio por 12 e 15 semanas pós-desmame. A sobrecarga de sódio também não alterou as concentrações de sódio e potássio no fluido cerebrospinal (FCS) em ratos Fischer, mas o fez em Wistar. Em conclusão, a sensibilidade à Ang II exógena não é alterada em animais submetidos à dieta com sobrecarga de sódio (0,90% de sódio) independente de alterações nos níveis pressóricos causadas pela mesma dieta em ratos da linhagem Wistar. Alterações nas concentrações de sódio e potássio no FCS podem ter impacto nas respostas cardiocirculatórias em nosso modelo animal.

## Abstract

In this work, we investigated the effects of a sodium-rich diet on resting blood pressure and cardiovascular responses induced by Angiotensin II (Ang II) peripherally injected in Fischer and Wistar rats. For this, animals were divided into control groups that received 0.27% sodium in the diet for 12(FC12S, WC12S) and 15(FC15S) weeks after weaning and high-sodium that were submitted to sodium overload (0.90%) in the diet for 12 (FHS12S, WHS12S) and 15 (FHS15S) after weaning. One group of animals (FHS12SD3S) was submitted to diet with sodium overload for 12 weeks followed by control diet for another 3 weeks. Forty eight hours after cannulation surgery, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were recorded in agreed rats. Changes in MAP were induced by intravenous injections of Ang II (12.5 25, 50, 100, 200 and 400ng / kg) in the groups FC12S, FHS12S and 12, 50, 200 and 400ng / kg in the groups FC15S, FHS15S, WHS12S and WHS15S. Fischer rats showed no increase in blood pressure when compared to Wistar ( $114 \pm 1.3$  mmHg (FHS12S) vs.  $125 \pm 1.3$  mmHg (WHS12S)). Regarding heart rate (HR), no significant differences were observed between the groups (FC12S, FHS12S, FC15S, FHS15S, FHS12SD3S, WHS12S e WHS15S). The diet with sodium overload did not alter the sensitivity of Fischer and Wistar rats to exogenous Ang II. Serum creatinine and urea concentrations were not altered with sodium overload in the FHS12SS and FHS15S groups, however, there was a decrease in the FHS12SD3S group. Serum albumin level was altered in Fischer rats submitted to a sodium overload diet for 12 and 15 weeks after weaning. Dietary sodium overload also did not alter sodium and potassium concentrations in cerebrospinal fluid (FCS) in Fischer rats, but did so in Wistar. In conclusion, the sensitivity to exogenous Ang II is not altered in animals submitted to diet with sodium overload (0.90% sodium) regardless of changes in pressure levels caused by the same diet in Wistar rats. Changes in sodium and potassium concentrations in the FCS may have an impact on cardiocirculatory responses in our animal model.

## Lista de figuras

- Figura 1.** Esquema das gaiolas metabólicas utilizadas no experimento, mostrando o procedimento de quantificação e coleta. Ingestão de comida (painel A), água (painel B) e produção de urina (painel C): Na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> após o desmame, os ratos foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas (Tecnoplast®), por um único período de 48 horas e fornecido água da torneira e alimentados com ração regular ou com um alto teor de sódio ad libitum. ....26
- Figura 2.** Esquema para a aquisição de dados biológicos pelo PowerLab.....27
- Figura 3.** Protocolo experimental para aquisição das respostas cardiovascular à administração endovenosa de Ang II (e veículo) em animais dos grupos controle e sob dieta com sobrecarga de sódio. ....29
- Figura 4.** Traçados representativos da pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) mostrando o perfil das respostas cardiovasculares evocadas pela injeção de Ang II (100 ng/kg de massa corporal).....31
- Figura 5.** Massa Corporal (A), ganho de massa (B) e ingestão de ração (C) dos animais FC12S e FHS12S. ....34
- Figura 6.** Ingestão de sódio, concentração de sódio na urina, excreção de sódio e balanço de sódio de ratos FHS12S, FHS15S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, FC15S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas e FHS12SD3S na 15<sup>a</sup>S (A-D).....37
- Figura 7.** Ingestão de água, volume urinário e balanço de água em ratos FHS12S, FHS15S (0,90% de sódio na dieta) e FC12S, FC15S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas (A-C).. ....39
- Figura 8.** Concentração e excreção de potássio na urina de ratos FHS12S (0,90% de sódio na dieta) e FC12S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semanas.....40
- Figura 9.** Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) de ratos Fischer sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame.....42
- Figura 10.** Traçados representativos de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) mostrando o perfil das respostas cardiovasculares evocadas pela injeção de Ang II (100 ng/kg de massa corporal) em um animal do grupo FC12S (A) e em um do grupo FHS12S (B).....43

<b>Figura 11.</b> Efeitos cardiovasculares das diferentes doses de Ang II (12,5 25, 50, 100, 200 e 400 ng/kg) injetadas intravenosamente em ratos Fischer sob dieta regular (0,27% de sódio; grupo FC12S) e com sobrecarga de sódio (0,90%) durante 12 semanas.....	44
<b>Figura 12.</b> Massa Corporal (A), ganho de massa (B) e ingestão de ração (C) dos animais FC15S, FHS15S e FHS12SD3S.....	46
<b>Figura 13.</b> Concentração (A) e excreção (B) de potássio na urina de ratos FHS15S (0,90% de sódio na dieta), FC15S (0,27% de sódio na dieta) e FHS12SD3S (0,90%/0,27% de sódio na dieta) na 4 <sup>a</sup> , 8 <sup>a</sup> , 12 <sup>a</sup> e 15 <sup>a</sup> semanas.....	48
<b>Figura 14.</b> Pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) de ratos Fischer alimentados com dieta controle (FC15S 0,27% de sódio) ou dieta com sobrecarga de sódio (FHS15S 0,90% de sódio) durante 15 semanas pós-desmame ou alimentados sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por 3 semanas com dieta regular (FHS12SD3S 0,90%/0,27% de sódio).....	50
<b>Figura 15.</b> Efeitos cardiovasculares produzidos pela injeção endovenosa de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos dos grupos FC15S, FHS15S e FHS12SD3S. Painel A: resposta pressora à Ang II; painel B: respostas bradicárdicas à Ang II.....	52
<b>Figura 16.</b> Pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) de ratos Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame.....	53
<b>Figura 17.</b> Efeitos cardiovasculares produzidos por injeções endovenosas de diferentes doses de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos Wistar dos grupos WC12S e WHS12S. Painel A: resposta pressora à Ang II; painel B: resposta bradicárdica à Ang II.....	55
<b>Figura 18.</b> Curva dose resposta produzida por injeções endovenosas de diferentes doses de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S.....	56
<b>Figura 19.</b> Ingestão de sódio, concentração de sódio na urina, excreção de sódio e balanço de sódio em ratos FHS12S, WHS12S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, WC12S (0,27% de sódio na dieta) na 12 <sup>a</sup> semana (A-D).....	58
<b>Figura 20.</b> Ingestão de água, volume urinário e balanço de água em ratos FHS12S, WHS12S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, WC12S (0,27% de sódio na dieta) na 12 <sup>a</sup> semana (A-C).....	60

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1</b> – Composição da ração comercial Nuvilab CR-1 (Quimtia®) .....	25
<b>Tabela 2.</b> Concentrações de albumina, creatinina, ureia, sódio e potássio em amostras de plasma provenientes de ratos Fischer dos grupos FC12S e FHS12S 12 semanas após o desmame .....	41
<b>Tabela 3.</b> Concentrações de albumina, creatinina, ureia, sódio e potássio em amostras de plasma provenientes de ratos Fischer dos grupos FC15S, FHS15S e FHS12SD3S 15 semanas após o desmame .....	49

## Lista de abreviaturas

PA – Pressão Arterial

Ang I – Angiotensina I

Ang II – Angiotensina II

SRAA – Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

ECA – Enzima conversora de Angiotensina

PAM – Pressão Arterial Média

FC – Frequência Cardíaca

SNC – Sistema Nervoso Central

i.v - Injeções intravenosas

FCS – Fluido Cerebroespinal

NaCl – Cloreto de Sódio

PBS – Salina tamponada com fosfato

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CCA – Centro de Ciência Animal

Dahl-S – ratos sal-sensíveis

Dahl-R – ratos sal-resistentes

## Sumário

1. Introdução .....	17
1.1. Sistema renina-angiotensina e hipertensão.....	19
2. Objetivos .....	22
2.1 Principais .....	22
2.2 Estratégia experimental .....	22
3. Materiais e Métodos .....	23
3.1 Animais e grupos experimentais.....	23
3.2 Dieta .....	24
3.3. Medidas de ingestão de água, ração e coleta de urina.....	25
3.4. Implante de cânulas arteriais e venosas.....	26
3.5. Registro de pressão arterial.....	27
3.6. Curva dose resposta para Ang II .....	28
3.7 Dosagens bioquímicas.....	29
3.7.1 Urina - Sódio e potássio .....	29
3.7.2 Plasma – sódio, potássio, albumina, creatinina e ureia.....	29
3.7.3 Fluido cerebrospinal (FCS) – sódio e potássio.....	30
3.8 Análise dos dados e estatística .....	30
4. Resultados .....	33
4.1 GRUPO FC12S e FHS12S .....	33
4.1.1. Massa corporal.....	33
4.1.2. Ingestão de ração.....	33
4.1.3. Ingestão de sódio, concentração e excreção de sódio na urina, balanço de sódio – FC12S, FC15S, FHS12S e FHS15S .....	35
4.1.4. Ingestão de água, volume urinário e balanço de água - FC12S, FC15S, FHS12S e FHS15S .....	38

4.1.5. Concentração de K <sup>+</sup> na urina e análises bioquímicas no plasma .....	40
4.1.6. Pressão arterial e frequência cardíaca .....	42
4.1.7. Resposta à angiotensina II exógena .....	43
4.2 GRUPO FC15S, FHS15S e FHS12SD3S.....	45
4.2.1. Massa corporal.....	45
4.2.2. Ingestão de ração.....	45
4.2.3. Concentração de K <sup>+</sup> na urina e análises bioquímicas no plasma.....	47
4.2.4. Pressão arterial e frequência cardíaca.....	50
4.2.5. Resposta à angiotensina II exógena .....	51
4.3 GRUPO WC12S e WHS12S.....	53
4.3.1. Pressão arterial e frequência cardíaca.....	53
4.3.2. Resposta à angiotensina II exógena .....	54
4.4 GRUPO FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S .....	56
4.4.1 Curva dose resposta .....	56
4.4.2. Ingestão de sódio, concentração e excreção de sódio na urina, balanço de sódio – 12 <sup>a</sup> semana.....	57
4.4.3. Ingestão de água, volume urinário e balanço de água – 12 <sup>a</sup> semana.....	59
4.4.4. Fluido cerebrospinal .....	61
5. Discussão.....	63
6. Conclusão .....	68
7. Referências .....	69
8. Anexos .....	74

## 1. Introdução

O aumento crônico da pressão arterial (hipertensão) é um dos maiores problemas de saúde humana (Guyenet, 2006a). Muitos fatores contribuem para o desenvolvimento da hipertensão arterial e incluem elementos genéticos, desenvolvimentos de tumores secretores de hormônios com ações no sistema cardiovascular e fatores ambientais e comportamentais como alcoolismo, tabagismos, ingestão excessiva de gorduras e de sódio na dieta (Molina *et al.*, 2003). A ingestão excessiva de sódio na dieta tem sido apontada como fator pró hipertensivo para humanos há mais de 100 anos (Molina *et al.*, 2003). Dentre os fatores que contribuem para esse aumento exacerbado do consumo de sódio entre a população podemos citar o consumo de alimentos industrializados que possuem alto teor de sódio em sua composição (Molina *et al.*, 2003). Além do consumo cada vez maior de alimentos industrializados, eles também estão sendo incorporados cada vez mais precocemente em nossa alimentação, até mesmo durante a fase de amamentação. Assim, é possível que populações jovens expostas a alimentação com alto teor de sódio sejam mais susceptíveis ao desenvolvimento de hipertensão arterial na vida adulta, resultando em um gasto considerável dos sistemas de saúde para tratamento destes indivíduos. Apesar de medidas que visam diminuir a concentração de sódio em alimentos processados, a estimativa é que em 2017 ainda os valores de consumo médio de sódio fiquem acima do limite máximo recomendado de 2000mg/dia (Souza Ade *et al.*, 2016). No entanto, os mecanismos fisiológicos que explicam a relação entre o aumento da ingestão de sódio e hipertensão ainda são pouco entendidos.

Muitos autores propuseram e usaram modelos experimentais de hipertensão sódio-dependente para estudar suas origens. Estudos realizados com dieta contendo 4% de cloreto de sódio (NaCl) (Osborn *et al.*, 2000; Hendel e Collister, 2006; Osborn *et al.*, 2008) e 2% de NaCl não provocaram alterações nos níveis pressóricos em ratos adultos (King *et al.*, 2007; Osborn *et al.*, 2012; Collister *et al.*, 2013). Somente a associação dessas dietas (2% e 4% de NaCl) com Angiotensina II (Ang II), foi capaz de provocar a hipertensão nesses animais. Dessa forma, este modelo tem sido utilizado para o estudo da hipertensão arterial sódio-dependente. Uma das

características deste modelo, denominado AngII-sal, é o envolvimento do sistema nervoso autonômico, em especial do simpático, na manutenção da pressão arterial elevada. A infusão de Ang II na presença de sal (Ang II-sal) promove simpatoexcitação e a manutenção do tônus simpático elevado parece ser a causa da hipertensão arterial neste modelo (King *et al.*, 2007; Yoshimoto *et al.*, 2010; Osborn *et al.*, 2011). A sobrecarga de sódio associada à infusão crônica de Ang II ativa o sistema nervoso simpático esplênico para aumentar o tônus vasomotor (aumentando a resistência periférica total e PA) (King e Fink, 2006; King *et al.*, 2007; Osborn e Fink, 2010; Toney *et al.*, 2010; Osborn *et al.*, 2011). Outro modelo de hipertensão sal-dependente reportado na literatura se baseia na oferta de uma solução com 0,9% de NaCl como única fonte de fluido para animais (Adams *et al.*, 2009; Guild *et al.*, 2012). Nesse modelo, os animais não podem fazer o controle adequado dos níveis de sódio nos fluidos corporais por ser ofertado aos mesmos somente a solução de salina, ou seja, sem acesso a água. Outro modelo de hipertensão em ratos adultos é utilizado sendo oferecido uma dieta contendo 8% de NaCl (Gu *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015). No entanto, essa sobrecarga elevada de sal na dieta (8% de NaCl) provoca uma série de alterações fisiológicas e metabólicas que provocam o aumento sustentado da PAM (Gu *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015). A administração de mineralcorticóides em ratos adultos (Wehrwein *et al.*, 2014) ou a predisposição genética, ratos Dahl sal-sensíveis (Ferrari e Mark, 1987; Huang e Leenen, 1998; Leenen *et al.*, 2002; Foss *et al.*, 2013; Annoni *et al.*, 2015) combinado com uma dieta com 2% de NaCl também foi capaz de manter os níveis pressóricos elevados. Nestes modelos, a hipertensão só é alcançada em condições experimentais específicas e estritas, que na maioria das vezes não guardam algumas correlações com a hipertensão arterial em seres humanos.

Dados da literatura têm observado aumento de sódio na dieta acompanhado pelo aumento da concentração de Na<sup>+</sup> no fluido cerebrospinal (FCS) em ratos Dahl sal-sensíveis (Dahl-S), sem alterações na concentração de Na<sup>+</sup> no FCS em ratos sal-resistentes (Dahl-R) (Nakamura e Cowley, 1989). No estudo de Nakamura e Cowley, eles não analisaram a concentração de K<sup>+</sup> no FCS. Comumente são realizadas apenas análise da concentração de sódio no FCS em modelos de hipertensão sódio dependente. Neste trabalho, os autores defendem a ideia de que o aumento da

concentração de Na<sup>+</sup> no FCS pode estar contribuindo para a manutenção da hipertensão, uma vez que, o aumento dos níveis pressóricos em ratos Dahl-S sob dieta com sobrecarga de sódio (4% de NaCl) ocorreu já no primeiro dia e alterações na concentração de sódio no FCS ocorreu apenas depois de alguns dias (Nakamura e Cowley, 1989). Outro ponto importante, quando se trata de estudos com modelos animais que recebem sobrecarga de sódio na dieta, é o balanço de sódio (que é a diferença entre o sódio ingerido, menos o sódio excretado na urina em 24h) e balanço de água (que é a diferença entre a ingestão de água e o volume urinário de 24h). O resultado do balanço de sódio é relevante para saber qual a porcentagem de sódio ingerida na dieta está sendo excretado na urina (Nakamura e Cowley, 1989). Em modelos animais submetidos à sobrecarga de sódio na dieta, também são analisados as concentrações de sódio e potássio plasmático, que apesar do aumento da ingestão de sódio na dieta em ratos Dahl-S e Dahl-R, não são encontradas diferenças nas concentrações de sódio e potássio no plasma (Ferrari e Mark, 1987). Análises bioquímicas das concentrações de creatinina e ureia são importantes para se avaliar a função renal (Rosner e Bolton, 2006). Um indicativo de desidratação aguda também pode ser realizada pela análise dos níveis séricos de albumina (Busher, 1990).

### **1.1. Sistema renina-angiotensina e hipertensão**

Um importante mecanismo no controle da pressão arterial (PA) é o sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) (Drenjancevic-Peric *et al.*, 2011). Alguns estímulos, como por exemplo, a diminuição da PA e redução da concentração de sódio sérico levam a liberação de renina pelos rins. A renina ao ser liberada na corrente sanguínea promove uma cascata de formação, onde a renina converte o peptídeo angiotensinogênio (que é produzido no fígado) em angiotensina I (Ang I), que logo após é convertida em Angiotensina II (Ang II) pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (Drenjancevic-Peric *et al.*, 2011). A Ang II é um peptídeo envolvido não só no controle cardiovascular, mas também no balanço hidroeletrólítico. Quando a Ang II se liga aos seus receptores do tipo AT1, no sistema nervo central (SNC) promove um aumento da atividade simpática; quando a Ang II se liga na vasculatura periférica

promove vasoconstrição das arteríolas; além disso, a Ang II estimula a liberação de aldosterona pelo córtex da supra renal, o que vai levar a redução na excreção de sódio e água na urina (De Luca Junior *et al.*, 2013). Desempenhando esses papéis a Ang II aumenta a retenção de água e sódio, o volume sanguíneo e a PA. Por outro lado, o aumento do cloreto de sódio (NaCl) na dieta vai fazer com que se tenha um aumento de sódio no líquido extracelular, logo, o aparelho justaglomerular, responsável pela produção de renina, vai reduzir a produção de renina e conseqüentemente terá uma redução dos níveis plasmáticos de Ang II (Rocha *et al.*, 1999). Em modelos animais esse mecanismo é bem controlado, se o animal ingere mais sódio na dieta, ele consegue eliminar esse excesso de sódio de tal forma que não fique hipertenso. Já é reportado na literatura que ratos ditos “sal-sensíveis” (Dahl-S) têm uma expressão aumentada do gene renina e que possivelmente essa maior expressividade do gene da renina seria responsável pelo aumento dos níveis pressóricos quando expostos à uma dieta com sobrecarga de sódio (Haywood *et al.*, 1984). Além disso, outro possível mecanismo responsável à sensibilidade ao sódio seria uma anormalidade na resposta vascular periférica à Ang II. No estudo de Chamarthi e colaboradores eles observaram uma maior resposta da PA à Ang II em indivíduos normotensos submetidos à uma dieta com alto teor de sódio em relação aos indivíduos também normotensos submetidos à dieta com baixo teor de sódio. Entretanto, indivíduos hipertensos não apresentaram diferenças na resposta da PA em ambas as dietas. Desta forma, eles concluíram que indivíduos hipertensos “sal-sensíveis” submetidos à dieta com alto teor de sódio têm uma resposta vascular anormal à infusão de Ang II (Guyenet, 2006b).

Logo, o entendimento de quais mecanismos fisiológicos estão envolvidos nas adaptações à sobrecarga de sódio iniciado de forma precoce em nossas vidas é de grande relevância para implementação de medidas preventivas ou de terapias adequadas para a hipertensão no indivíduo adulto.

Portanto, considerando o fato de que existe uma relação entre Ang II e sobrecarga de sódio na dieta (Kanagy e Fink, 1993), a principal hipótese deste trabalho é que também a sensibilidade à Ang II exógena possa estar envolvida com o aumento dos níveis pressóricos em animais submetidos à dieta com sobrecarga de sódio desde o desmame. Para tanto, em nosso trabalho procurou-se desenvolver um modelo mais fisiológico de hipertensão dependente de sódio em diferentes linhagens

(Fischer e Wistar) e testar a sensibilidade à Ang II periférica nestes modelos animais. Já é reportado na literatura que ratos da linhagem Fischer apresentam diferenças morfológicas, sensoriais e motoras em relação à ratos da linhagem Wistar (Webb *et al.*, 2003). Além disso, ratos Wistar tem mais susceptibilidade de desenvolver tumores intestinais pela injeção subcutânea com 1,2-dimetilhidrazina (DMH) do que ratos Fischer (Večerić e Cerar, 2004). No entanto, em relação à síndrome metabólica, parece haver semelhanças observadas entre ratos da linhagem Fischer (De Castro *et al.*, 2013) e Wistar (De Moura *et al.*, 2009; Ghezzi *et al.*, 2012) submetidos à uma dieta rica em frutose até a vida adulta. Tendo em vista, as peculiaridades observadas em ratos Fischer e Wistar, nós investigamos se, em nosso modelo animal com sobrecarga de sódio na dieta, o fator linhagem, é responsável por diferenças na PA e responsividade do animal à Ang II.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Principais**

1. Determinar quais são os efeitos de uma dieta contendo sobrecarga de sódio sobre a pressão arterial de ratos das linhagens Fischer e Wistar.
2. Investigar as ações cardiovasculares da angiotensina II nestes animais.
3. Determinar as alterações que ocorrem no balanço hidromineral destes animais em função da dieta contendo sobrecarga de sódio.

### **2.2 Estratégia experimental**

- Induzir aumento na ingestão de sódio por meio de dieta contendo 0,90% (p/p) do mineral em ratos das linhagens Fischer e Wistar a partir da 3<sup>a</sup> (pós desmame) até a 12<sup>a</sup> semana de vida.
- Induzir aumento na ingestão de sódio por meio de dieta contendo 0,90% (p/p) do mineral em ratos das linhagem Fischer a partir da 3<sup>a</sup> (pós desmame) até a 15<sup>a</sup> semana de vida.
- Avaliar o balanço hidromineral nestes animais a intervalos regulares de 4 semanas.
- Determinar se este protocolo experimental induz hipertensão arterial em ratos de ambas as linhagens após 12 semanas sob a dieta contendo 0,90% de sódio.
- Determinar se este protocolo experimental induz hipertensão arterial em ratos da linhagem Fischer após 15 semanas sob a dieta contendo 0,90% de sódio.
- Avaliar as respostas cardiovasculares à angiotensina II administrada intravenosamente nestes animais.
- Verificar se a troca da dieta contendo 0,90% de sódio pela dieta contendo níveis normais de sódio (0,27%) a partir da 12<sup>a</sup> até a 15<sup>a</sup> semana tem implicações relevantes sobre a pressão arterial e respostas cardiovasculares à angiotensina II em ratos da linhagem Fischer.
- Avaliar alterações na concentração de sódio e potássio no fluido cerebrospinal (FCS) em ratos Fischer alimentados com sobrecarga de sódio na dieta por 12 e 15 semanas pós desmame.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Animais e grupos experimentais

No presente trabalho, foram utilizados ratos das linhagens Fischer e Wistar submetidos a dietas com teores controlados de sódio a partir de 21 dias de idade (no desmame). Estes animais foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais, de acordo com dieta e linhagem:

1. Grupo **FHS12S**: 23 ratos Fischer divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,90% (p/p) de sódio e água de torneira por 12 semanas. O objetivo deste grupo foi avaliar alterações cardiovascular após a sobrecarga de sódio na dieta por 12 semanas.
2. Grupo **FC12S**: 27 ratos Fischer divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,27% (p/p) de sódio e água de torneira por 12 semanas. Este grupo foi o controle do grupo sobrecarga de sódio por 12 semanas.
3. Grupo **FHS15S**: 13 ratos Fischer divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,90% (p/p) de sódio e água de torneira por 15 semanas. O objetivo deste grupo foi avaliar alterações cardiovascular após a sobrecarga de sódio na dieta por 15 semanas.
4. Grupo **FHS12SD3S**: 13 ratos Fischer divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,90% (p/p) de sódio e água de torneira por 12 semanas e, em seguida, ração contendo 0,27% (p/p) de sódio e água de torneira por mais 3 semanas. O objetivo deste grupo foi avaliar alterações cardiovasculares após a recuperação por 3 semanas da sobrecarga de sódio na dieta por 12 semanas.
5. Grupo **FC15S**: 13 ratos Fischer divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,27% (p/p) de sódio e água de torneira por 15 semanas. Este grupo foi o controle do grupo sobrecarga de

sódio por 15 semanas e sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por 3 semanas de recuperação.

6. Grupo **WHS12S**: 13 ratos Wistar divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,90% (p/p) de sódio e água de torneira por 12 semanas. O objetivo deste grupo foi avaliar alterações cardiovascular após a sobrecarga de sódio na dieta por 12 semanas.
7. Grupo **WC12S**: 17 ratos Wistar divididos em gaiolas coletivas (até 4 ratos/gaiola) com livre acesso a ração contendo 0,27% (p/p) de sódio e água de torneira por 12 semanas. Este grupo foi o controle do grupo sobrecarga de sódio por 12 semanas.

Todos os procedimentos aqui adotados foram realizados de acordo com as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) institucional (protocolos de nº 2014/63, 2016/15, 2016/16).

Todos os ratos foram alojados no Centro de Ciência Animal (CCA) da UFOP durante as 12 ou 15 semanas inerentes a cada protocolo, sob temperatura (22-24°C), umidade (40-60%), luz: ciclo escuro (12h: 12h) controlados até a realização dos procedimentos experimentais.

### **3.2 Dieta**

A dieta utilizada foi a ração para roedores comercial da marca Nuvilab CR1 (Quimtia®) cuja composição principal é mostrada na tabela 01.

Todos os grupos experimentais receberam a ração triturada, com o conteúdo de sódio ajustado para 2% naquela dieta ofertada aos grupos sob sobrecarga de sódio. A ração contendo alto teor de sódio foi obtido por adição de cloreto de sódio P.A. (Synth® Ltda) até o teor final de 0,90% de sódio p/p.

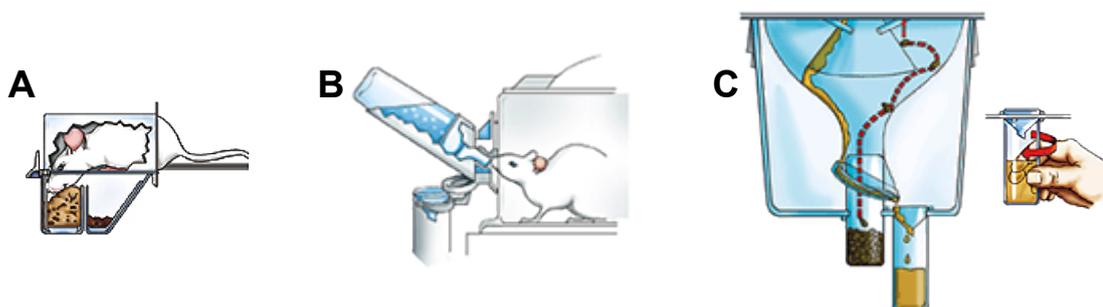
**Tabela 1** – Composição da ração comercial Nuvilab CR-1 (Quimtia®).

	Min/máx	Unidade
Umidade	Máx	125 g/Kg
Proteína bruta	Min	220 g/Kg
Extrato etéreo	Min	40 g/Kg
Materia mineral	Max	90 g/Kg
Fibra bruta	Max	70 g/Kg
Cálcio	Min-máx	10-14 g/Kg
Fósforo	Min	8000 mg/Kg
Vitamina A	Min	13.000UI/kg
Vitamina D2	Min	2.000 UI/kg
Vitamina E	Min	34 UI/kg
Vitamina K3	Min	3 mg/kg
Vitamina B1	Min	5 mg/kg
Vitamina B2	Min	6 mg/Kg
Vitamina B6	Min	7 mg/Kg
Vitamina B12	Min	22mcg/kg
Niacina	Min	60 mg/kg
Pantoten de cálcio	Min	20 mg/kg
Ácido fólico	Min	1 mg/kg
Biotina	Min	0,05 mg/kg
Colina	Min	1.900 mg/kg
Sódio	Min	2.700 mg/kg
Ferro	Min	50 mg/kg
Manganês	Min	60 mg/kg
Zinco	Min	60 mg/kg
Cobre	Min	10 mg/kg
Iodo	Min	2 mg/kg
Selênio	Min	0,05 mg/kg
Cobalto	Min	1,5 mg/kg
Flúor	Máx	80 mg/kg
Lisina	Min	12 g/kg
Metionina	Min	4.000 mg/kg
BHT		100 mg/kg

### 3.3. Medidas de ingestão de água, ração e coleta de urina

Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas Tecnoplast® na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semana após o desmame. Em cada semana analisada, os animais permaneceram por 48 horas na gaiola, sendo as primeiras 24 horas destinadas a adaptação do animal ao novo ambiente. As últimas 24 horas foram destinadas à obtenção das medidas precisas da ingestão de água, ração e volume urinário dos animais por gravimetria e obtenção de amostras de urina para determinações bioquímicas posteriores. A ingestão de alimento e água foram calculados como a diferença entre a quantidade inicial de ração e água ingeridos e a remanescente 24 horas após. Amostras de urina (2 mL) coletados por gravimetria foram estocados a -

20°C até o momento da determinação das concentrações de sódio e potássio. A figura 1 representa, de forma esquemática, o funcionamento da gaiola metabólica utilizada em nossos experimentos.



**Figura 1.** Esquema das gaiolas metabólicas utilizadas no experimento, mostrando o procedimento de quantificação e coleta. Ingestão de comida (painel A), água (painel B) e coleta de urina (painel C): Na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> após o desmame, os ratos foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas (Tecnoplast®), por um único período de 48 horas e fornecido água da torneira e alimentados com ração regular ou com um alto teor de sódio ad libitum. As amostras de urina foram imediatamente congeladas a -20°C logo após a coleta e mantidas nessa temperatura até a análise. Posteriormente, os ratos foram novamente colocados em gaiolas coletivas e fornecido água da torneira e alimentados com ração regular ou com alto teor de sódio ad libitum.

### 3.4. Implante de cânulas arteriais e venosas

Para confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE-50 soldados a tubos de polietileno PE-10 sendo as dimensões ajustadas de acordo com a massa corpórea do animal. Antes do implante, o interior das cânulas foi lavado e preenchido com solução isotônica de cloreto de sódio e fosfatos (PBS). A extremidade PE-50 de cada cânula foi obstruída com pino de metal esterilizado.

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de uma mistura de quetamina (80mg/kg) e xilazina (7mg/kg). Em seguida, analgésico (cetropofeno, 2 mg/kg, intramuscular) foi administrado. Os animais foram postos em posição decúbito dorsal e tricotomizados na região ventral da pata traseira direita. Após incisão na região inguinal, o trígono femoral foi exposto. Artéria e veia femorais foram expostas e dissecadas. Os vasos foram cateterizados com a porção PE-10 das cânulas e o PE-

50 externo foi transpassado subcutaneamente ao dorso do animal e sua extremidade distal exteriorizada na região interescapular. Ao final do procedimento, as regiões que sofreram incisão foram suturadas. Após a cirurgia, antibiótico penicilina 30.000UI/kg foi administrada subcutaneamente. Cada animal se recuperou da cirurgia em gaiolas individuais por um período de 48 horas com livre acesso a água e respectivas dietas inerentes a cada grupo experimental.

### 3.5. Registro de pressão arterial

Os animais previamente canulados (48 horas antes) foram conectados a um transdutor de pressão (MLT0699) ligado a um pré-amplificador (BridgeAmp) e este a um conversor analógico para digital PowerLab 4 da série 35. Imediatamente antes do início do registro, 0,1 mL de uma solução de heparina em PBS (1000 UI/mL) foi injetada na cânula arterial (pela extremidade do PE50 exteriorizada) para evitar a formação de coágulos durante o registro. Os dados assim coletados foram utilizados pelo software LabChar 8.1 for Windows para criar um registro temporal da pressão arterial pulsátil do animal. Para tanto, os dados foram registrados a uma frequência amostral de 1000 Hz (resolução temporal) utilizando uma janela de digitalização de 20 mV de amplitude (resolução espacial). A partir dos dados de pressão arterial pulsátil, foram derivados os dados de pressão arterial média (PAM) e de frequência cardíaca (FC) em tempo real. Um esquema do aparato é mostrado na Figura 2.

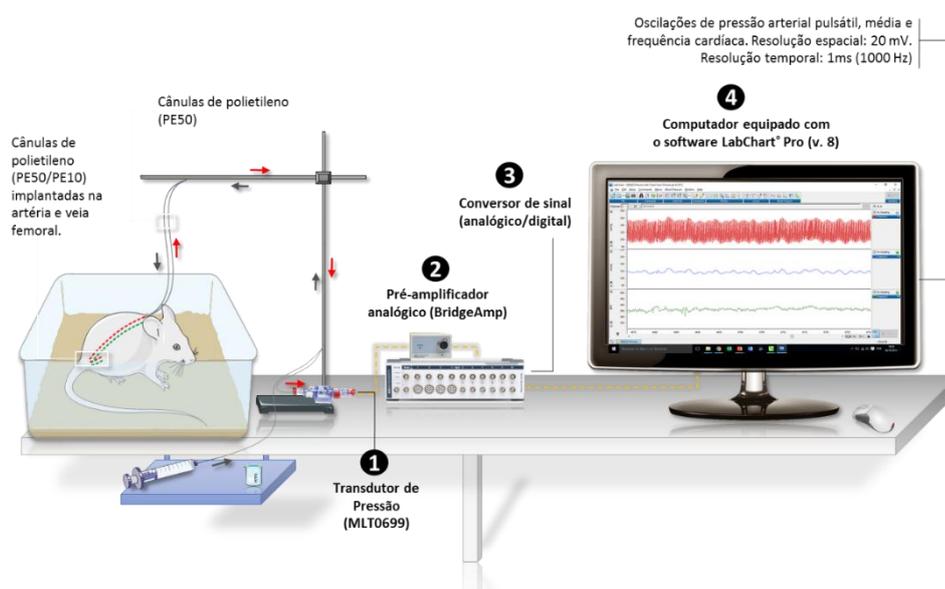


Figura 2. Esquema para a aquisição de dados biológicos pelo PowerLab.

### 3.6. Curva dose resposta para Ang II

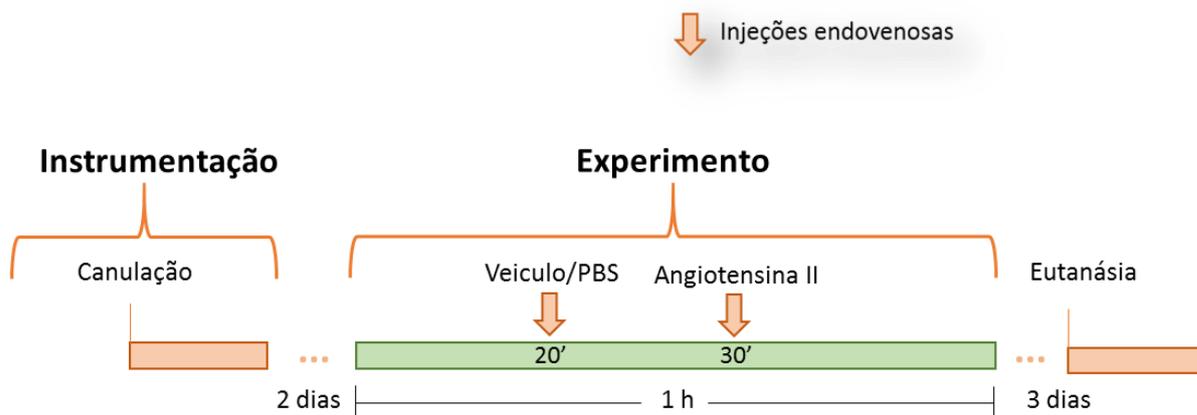
As respostas cardiovasculares à Ang II exógena foram avaliadas por meio de injeção endovenosa nas doses 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 ng/Kg (Sigma® Ltda). Uma solução estoque de Ang II foi preparada (1200 ng/mL), alíquotada em frações de 100 µL e estocada a -20°C até o momento do uso. A partir da solução estoque, soluções de trabalho foram preparadas por diluição e mantidas a 0°C em banho de gelo até o momento da injeção. As soluções de Ang II foram preparadas usando PBS pH 7,20 como solvente (veículo). Injeções de veículo apenas foram realizadas para controle de volume injetado.

Os experimentos farmacológicos foram conduzidos em animais não anestesiados e com livre movimentação na gaiola. Os parâmetros cardiovasculares foram monitorados durante todo o período de adaptação do animal ao ambiente de experimentação. Quando estes parâmetros mostraram-se estáveis, iniciou-se o registro definitivo dos dados. O tempo total de registro perdurou por aproximadamente 50 minutos. Os níveis de pressão arterial e frequência cardíaca de repouso foram quantificados durante este período, finalizado com a injeção endovenosa de veículo. Dez minutos após a injeção de veículo, foi realizada a administração de uma das doses de Ang II selecionada aleatoriamente. O tempo de injeção da Ang II foi de aproximadamente 30s. Cada animal recebeu no máximo duas doses de Ang II, respeitando-se um intervalo mínimo de 24h entre cada injeção. Esse procedimento foi realizado para evitar efeitos de taquifilaxia.

Para coleta do plasma, 72 horas após o segundo registro, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (170 mg/kg). O tórax foi aberto e uma amostra de sangue (1,5mL) foi coletada a partir da veia cava inferior (porção torácica). Logo após, as amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos a 6.035 fcr<sup>1</sup>, na temperatura de 23°C. O plasma foi então separado do sedimento e armazenado a -20°C para análises posteriores. Estes protocolos estão sumariados na Figura 3.

---

<sup>1</sup> Força centrífuga rotacional



**Figura 3.** Protocolo experimental para aquisição das respostas cardiovasculares à administração endovenosa de Ang II (e veículo) em animais dos grupos controle e sob dieta com sobrecarga de sódio. Após 3 dias da última sessão de registros os animais foram anestesiados com tiopental sódico para retirada de amostra de sangue e eutanasiados em seguida.

### 3.7 Dosagens bioquímicas

#### 3.7.1 Urina - Sódio e potássio

As análises de sódio e potássio na urina foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da Escola de Farmácia (EF/UFOP).

Depois de descongeladas, as amostras de urina foram centrifugadas a 6.035 fcr por 10 minutos para sedimentar precipitados. Para determinação da concentração de sódio, uma amostra de 10 $\mu$ L do sobrenadante foi retirada e diluída a 1:1.000. Para determinação da concentração de potássio, outra amostra de 1 $\mu$ L do sobrenadante foi retirada e diluída 1:10.000. As leituras das concentrações de sódio e potássio foram realizadas em fotômetro de chamas (MicroNal B462<sup>®</sup>), contra um padrão de sódio utilizado na calibração prévia do aparelho.

#### 3.7.2 Plasma – sódio, potássio, albumina, creatinina e ureia

As análises bioquímicas do plasma foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da Escola de Farmácia (EF/UFOP) e no Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular – (LFEC). Para determinação da concentração de sódio

e potássio plasmático, uma amostra de 25µL foi retirada e diluída a 1:200. A leitura da concentração de sódio e potássio plasmático foram realizadas em fotômetro de chamas (MicroNal B462®), contra um padrão de sódio utilizado na calibração prévia do aparelho.

Para determinações das concentrações plasmáticas de albumina, creatinina e uréia, ensaios colorimétricos foram realizadas utilizando-se kits comerciais (Bioclin. Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, Brasil). Todos os procedimentos bioquímicos foram efetuados tal como descrito pelas instruções da empresa. Determinação de albumina foi baseado no método de verde de bromocresol. A creatinina foi medida pelo método de Jaffé modificado (Jaffe, 1886) e ureia foi medida pela determinação colorimétrica de amônio resultante da degradação enzimática de ureia.

### **3.7.3 Fluido cerebrospinal (FCS) – sódio e potássio**

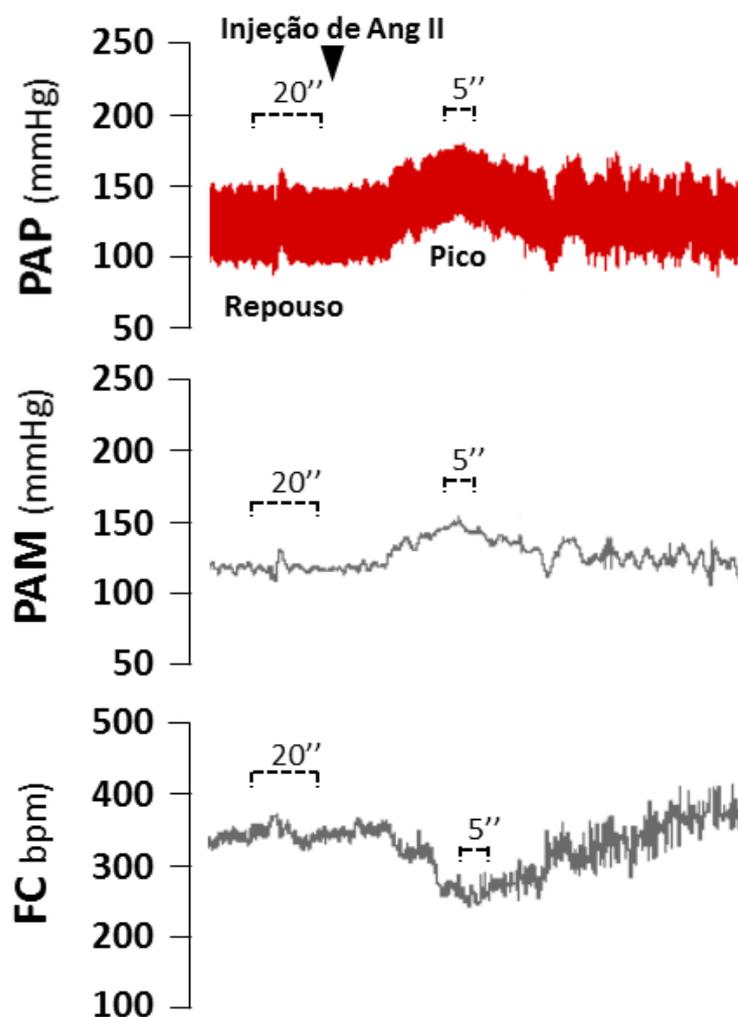
Para a amostragem do FCS, os animais sob anestesia foram colocados num aparelho estereotáxico e os músculos occipitais foram suavemente removidos para atingir a membrana atlantooccipital. Uma agulha 30G foi inserida na cisterna magna e um volume de aproximadamente 80 µL de FCS foi retirado para análise adicional de sódio e potássio. As amostras foram armazenadas a -20°C. Para determinação da concentração de sódio e potássio, 25 µL da amostra do FCS foi retirado e diluída 1:200. As leituras das concentrações de sódio e potássio foram realizadas em fotômetro de chamas (MicroNal B462®), contra um padrão de sódio utilizado na calibração prévia do aparelho.

## **3.8 Análise dos dados e estatística**

Os dados de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) basais foram determinados a partir da média dos valores registrados continuamente durante os primeiros 20 minutos do protocolo experimental.

As respostas cardiovasculares geradas pela injeção de Ang II exógena foram quantificadas detectando-se o pico máximo de variação da PAM e da FC. Para tanto,

utilizou-se os valores da PAM e FC imediatamente antes da injeção (repouso), quantificando-se as médias de PAM e FC num intervalo de 20s e os valores de pico da resposta à Ang II para PAM e FC (média de 5s no entorno dos picos), como representado na figura 4. As magnitudes das respostas foram quantificadas subtraindo-se os valores no repouso dos valores de pico de resposta. Estas respostas foram comparadas entre os grupos experimentais para cada dose de Ang II injetada.



**Figura 4.** Traçados representativos da pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) mostrando o perfil das respostas cardiovasculares evocadas pela injeção de Ang II (100 ng/kg de massa corporal). O traçado (20'') representa os valores da PAM e FC imediatamente antes da injeção (repouso), a seta indica o exato momento da injeção (injeção de Ang II) e o traçado (5'') representa valores de pico da resposta à Ang II para PAM e FC.

A curva dose resposta gerada pela injeção de Ang II exógena foi quantificada detectando-se o pico máximo de variação da PAM em mmHg.s. Para tanto, utilizou-se os valores da PAM 5 min logo depois da injeção, subtraindo-se 5 min imediatamente antes da injeção (repouso); 5-10 min depois da injeção, subtraindo-se 5 min (repouso); 10-15 min depois da injeção, subtraindo-se 5 min (repouso). As magnitudes das respostas foram quantificadas pela soma dos valores obtidos no intervalos de 5, 10 e 15 min, subtraindo-se o valor de repouso. Estas respostas foram comparadas entre os grupos experimentais FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S para cada dose de Ang II injetada.

Análises estatísticas foram feitas no software GraphPad Prisma 6.0 para Windows. Os dados estão representados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) e as comparações entre grupos foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias seguida pelos pós-teste de Bonferroni ou teste *t* de Student, não pareado, quando cabível. Diferença significativa entre os pares de médias foram definidos quando a probabilidade de se cometer erro tipo II foi inferior a 5%, ou seja,  $p < 0,05$

## 4. Resultados

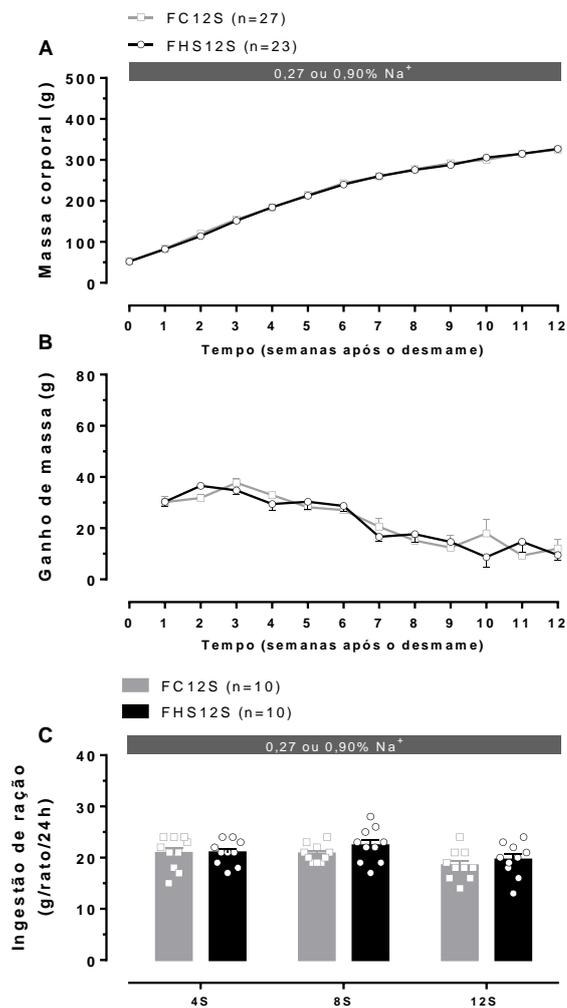
### 4.1 GRUPO FC12S e FHS12S

#### 4.1.1. Massa corporal

Ratos sob dieta regular (FC12S) ou dieta com sobrecarga de sódio (FHS12S) apresentaram massa corporal de  $53 \pm 1$  g e  $51 \pm 1$  g respectivamente ao desmame e completaram as 12 semanas de tratamento com  $325 \pm 4$  g e  $327 \pm 6$  g, respectivamente. Na figura 5, estão apresentados os dados de massa corporal e ganho de massa dos animais FC12S e FHS12S. Ratos Fischer sob dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) ganharam massa corporal de forma semelhante a animais do grupo controle em todas as semanas analisadas [ $30 \pm 1,8$ g;  $36 \pm 0,9$ g;  $34 \pm 1,6$ g;  $29 \pm 2,5$ g;  $30 \pm 2,8$ g;  $28 \pm 2,0$ g;  $16 \pm 1,7$ g;  $17 \pm 3,0$ g;  $14 \pm 1,1$ g;  $8,7 \pm 3,8$ g;  $14 \pm 4,0$ g;  $9,5 \pm 1,9$ g (FC12S) e  $30 \pm 2,0$ g;  $31 \pm 1,4$ g;  $37 \pm 1,6$ g;  $32 \pm 1,1$ g;  $28 \pm 2,1$ g;  $27 \pm 1,2$ g;  $20 \pm 3,1$ g;  $15 \pm 2,2$ g;  $12 \pm 4,7$ g;  $17 \pm 5,3$ g;  $9 \pm 3,8$ g;  $12 \pm 3,7$ g (FHS12S)]. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

#### 4.1.2. Ingestão de ração

A ingestão de ração em vinte e quatro horas foi medida em gaiola metabólica e os resultados mostraram que os animais FHS12S consumiram a mesma quantidade de ração que os do grupo FC12S (figura 5.C) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semana. O consumo médio de alimentos em 24 horas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semana foi de  $20 \pm 0,8$  g/rato/24h para o grupo controle e  $21 \pm 0,8$  g/rato/24h para o grupo sob dieta com sobrecarga de sódio (0,90%). A ingestão de ração na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semana analisadas foram: [ $20 \pm 1,0$ ;  $20 \pm 0,5$ ;  $18 \pm 0,9$  g/rato/24h (FC12S) e  $21 \pm 0,7$ ;  $22 \pm 1,0$ ;  $19 \pm 1,0$  g/rato/24h (FHS12S), respectivamente]. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figura 5.** Massa Corporal (A), ganho de massa (B) e ingestão de ração (C) dos animais FC12S e FHS12S. As medidas de massa corporal e ganho de massa foram realizadas semanalmente durante 12 semanas após o desmame. Os ratos foram alimentados com dieta regular (0,27% de sódio; grupo FC12S) ou dieta com sobrecarga de sódio (0,90% de sódio; grupo FHS12S) durante 12 semanas. A ingestão de ração foi medida em gaiola metabólica na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semanas. Dados foram representados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM).

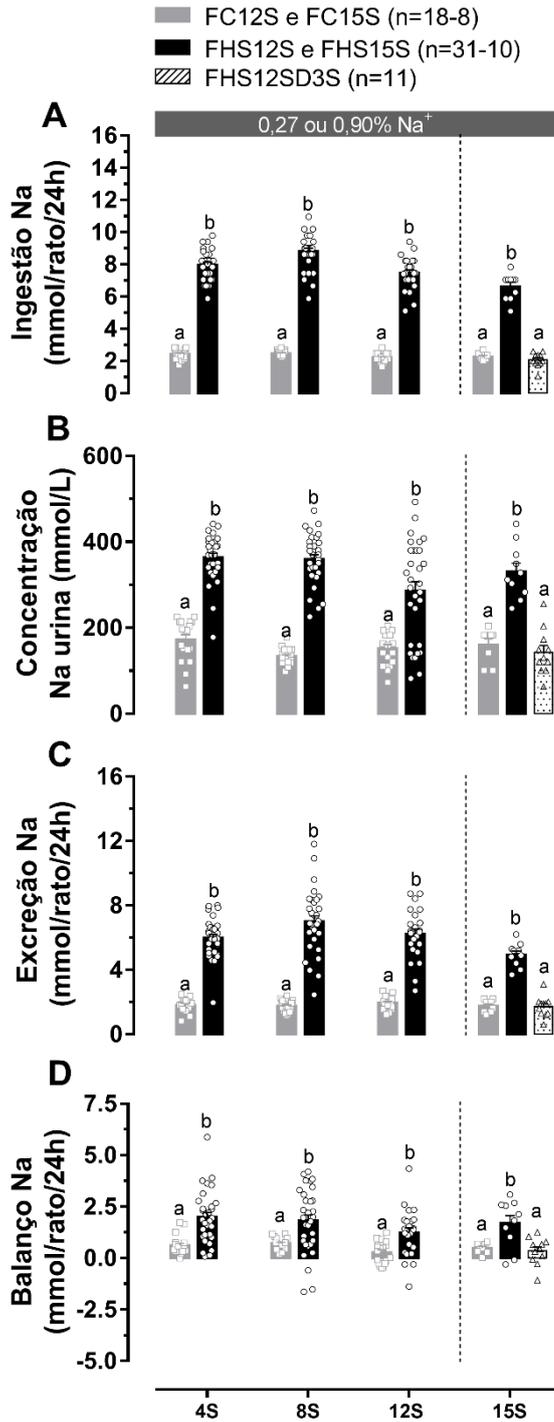
#### 4.1.3. Ingestão de sódio, concentração e excreção de sódio na urina, balanço de sódio – FC12S, FC15S, FHS12S e FHS15S

A ingestão de sódio foi calculada para cada rato multiplicando-se o consumo de alimento em 24 horas pelo teor de sódio em cada dieta experimental (0,117 mmol/g na dieta regular e 0,391 mmol/g na dieta com sobrecarga de sódio). Como esperado, o consumo médio de sódio em 24 horas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas em ratos sob dieta com sobrecarga de sódio foi maior (334%) que em ratos sob dieta regular. Two-way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC12S e FHS12S até a 12<sup>a</sup>S [2,4 ± 0,07; 2,45 ± 0,04; 2,21 ± 0,06 mmol/rato/24h (FC12S) e 7,9 ± 0,17; 8,8 ± 0,20; 7,4 ± 0,21 mmol/rato/24h (FHS12S) P < 0,0001]. One-Way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC15S, FHS15S e FHS15SD3S [2,2 ± 0,08; 6,6 ± 0,25; 2,0 ± 0,13 mmol/rato/24h P < 0,0001] respectivamente na 15<sup>a</sup>S; seguida pelo pós-teste de Bonferroni. As comparações entre os grupos dentro de cada semana encontram-se detalhadas na figura 6.A.

Na figura 6 (B e C) estão apresentados os dados de concentração e excreção de sódio na urina. A excreção de sódio em 24 horas foi calculada como o produto da concentração do íon pelo volume urinário em 24 horas. A concentração e excreção de sódio na urina foram em média 217% e 332 % mais elevados em ratos sob dieta com sobrecarga de sódio respectivamente. Concentração de sódio na urina na [4<sup>a</sup>S 171 ± 11,4; 8<sup>a</sup>S 133 ± 4,6; 12<sup>a</sup>S 151 ± 10,0 e 15<sup>a</sup>S 160 ± 14,2 mmol/L (FC12S e FC15S) e 353 ± 10 na 4<sup>a</sup>S; 359 ± 10 8<sup>a</sup>S; 285 ± 20 mmol/L 12<sup>a</sup>S; 330 ± 19 na 15<sup>a</sup>S (FHS12S e FHS15S) e 142 ± 16 mmol/L na 15<sup>a</sup>S (FHS12SD3S) P < 0,0001. Excreção de sódio na urina [4<sup>a</sup>S 1,80 ± 0,10; 8<sup>a</sup>S 1,75 ± 0,08; 12<sup>a</sup>S 1,94 ± 0,09 e 15<sup>a</sup>S 1,7 ± 0,14 mmol/rato/24h (FC12S, FHS12S) e 5,97 ± 0,22 na 4<sup>a</sup>S; 6,99 ± 0,36 8<sup>a</sup>S; 6,21 ± 0,33 12<sup>a</sup>S; 4,9 ± 0,23 na 15<sup>a</sup>S (FHS12S, FHS15S) e 1,70 ± 0,19 mmol/rato/24h na 15<sup>a</sup>S (FHS12SD3S) P < 0,0001. Two-way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC12S e FHS12S até a 12<sup>a</sup>S; One-Way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC15S, FHS15S e FHS15SD3S na 15<sup>a</sup>S; seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

O balanço de sódio em 24 horas (figura 6 D) foi calculado como a diferença entre a ingestão e a excreção urinária de sódio. Animais sob dieta com sobrecarga de sódio tiveram o balanço de sódio aumentado em relação à animais sob dieta controle

[4<sup>a</sup>S 0,60 ± 0,11; 8<sup>a</sup>S 0,69 ± 0,06; 12<sup>a</sup>S 0,27 ± 0,12; 15<sup>a</sup>S 0,48 ± 0,08 mmol/rato/24h (FC12S, FC15S) e 1,98 ± 0,23 na 4<sup>a</sup>S; 1,80 ± 0,28 8<sup>a</sup>S; 1,22 ± 0,24 12<sup>a</sup>S; 1,69 ± 0,36 15<sup>a</sup>S mmol/rato/24h (FHS12S, FHS15S) e 0,34 ± 0,19 mmol/rato/24h na 15<sup>a</sup>S (FHS12SD3S) P < 0,01. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

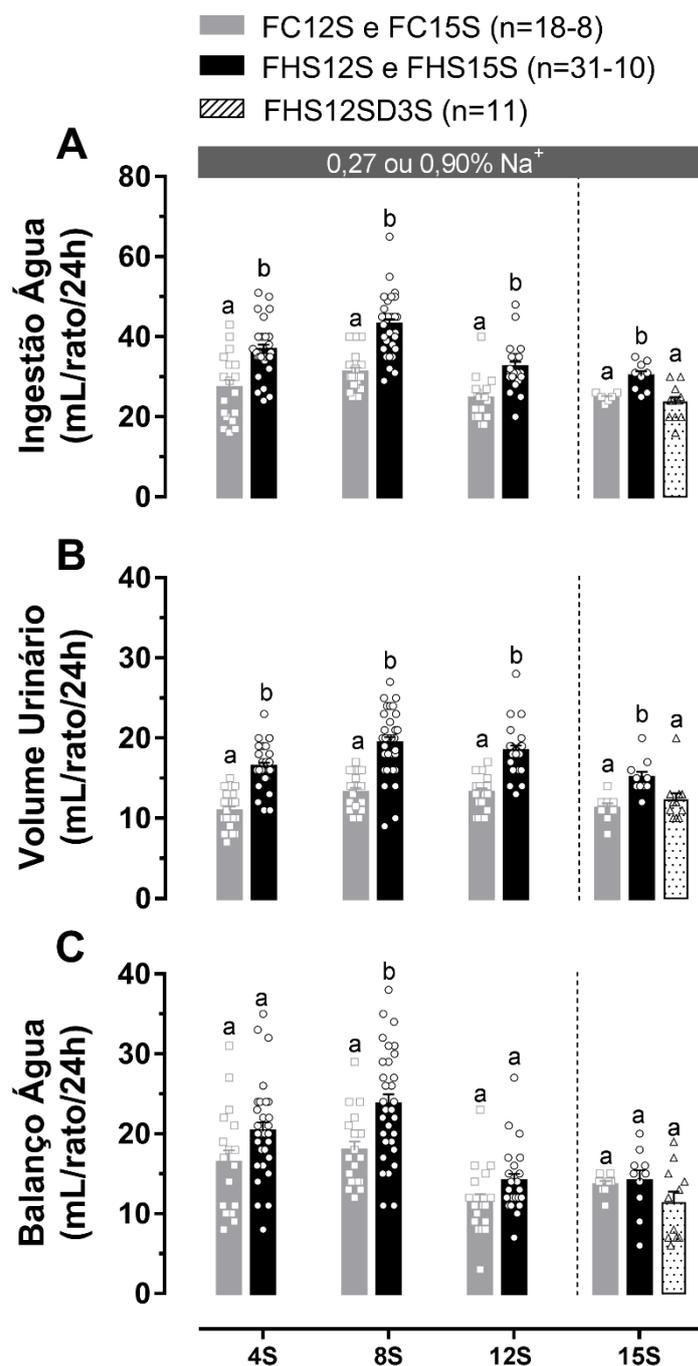


**Figura 6.** Ingestão de sódio, concentração de sódio na urina, excreção de sódio e balanço de sódio de ratos FHS12S, FHS15S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, FC15S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas e FHS12SD3S na 15<sup>a</sup>S (A-D). Quadrados (FC12S, FC15S), círculos (FHS12S, FHS15S) e triângulos (FHS12SD3S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da ingestão de Na, concentração de Na na urina, excreção de Na e balanço de Na, com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (a é significativamente diferente de b). Two-way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC12S e FHS12S até a 12<sup>a</sup>S; One-Way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC15S, FHS15S e FHS15SD3S na 15<sup>a</sup>S; seguida pelo pós-teste de Bonferroni e  $p < 0,01$ .

#### **4.1.4. Ingestão de água, volume urinário e balanço de água - FC12S, FC15S, FHS12S e FHS15S**

A dieta com sobrecarga de sódio resultou em maior ingestão de água e maior volume urinário em todas as semanas analisadas conforme mostrado na figura 7.

O balanço de água foi significativamente maior no grupo que recebeu a dieta com sobrecarga de sódio na 8ª semana ( $22,1 \pm 1,3$  mL/rato/24h FHS12S vs.  $17,9 \pm 1,1$  mL/rato/24h FC12S; two-way ANOVA,  $p < 0,05$ ).

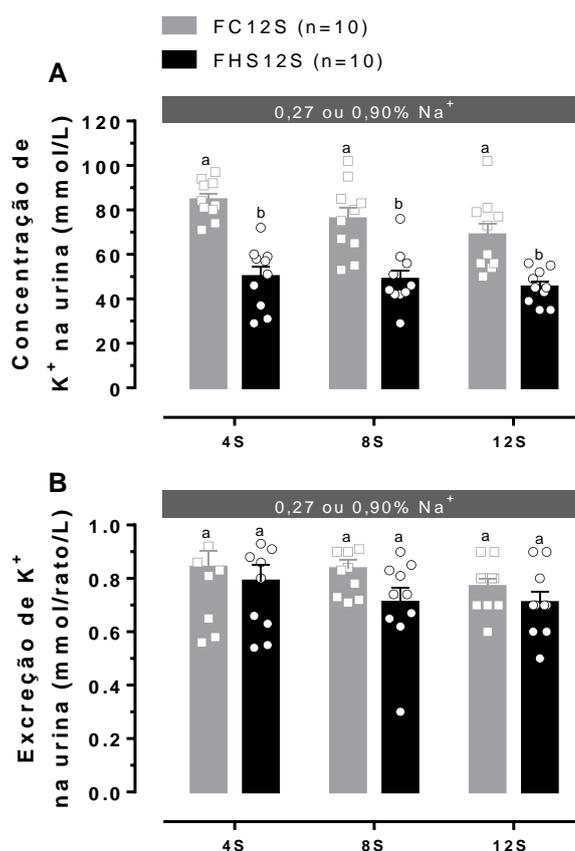


**Figura 7.** Ingestão de água, volume urinário e balanço de água em ratos FHS12S, FHS15S (0,90% de sódio na dieta) e FC12S, FC15S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas (A-C). Quadrados (FC12S, FC15S) e círculos (FHS12S, FHS15S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da ingestão de água, volume urinário e balanço de água com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (a é significativamente diferente de b). Two-way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC12S e FHS12S até a 12<sup>a</sup>S; One-Way ANOVA foi utilizado para comparação entre os grupos FC15S, FHS15S e FHS15SD3S na 15<sup>a</sup>S; seguida pelo pós-teste de Bonferroni e  $p < 0,05$ .

#### 4.1.5. Concentração de K<sup>+</sup> na urina e análises bioquímicas no plasma

A concentração média de potássio (K<sup>+</sup>) na urina em 24 horas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semanas foi, em média, 76,4 ± 4,6 mmol/L para o grupo FC12S e 48,0 ± 1,4 mmol/L para o grupo sob dieta com sobrecarga de sódio [P = 0,0131] (figura, 8.A). O grupo FHS12S tem quase a metade da concentração de K<sup>+</sup> na urina (62%) se comparado com o grupo FC12S. Entretanto, quando foi analisada a excreção de K<sup>+</sup> na urina, não foi observada diferença significativa entre os grupos [0,84 ± 0,06; 0,83 ± 0,03; 0,77 ± 0,03 (FC12S) e 0,79 ± 0,06; 0,71 ± 0,05; 0,71 ± 0,04 (FHS12S) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semana, respectivamente. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

Os resultados sumarizados na tabela 2 mostraram que a dieta com sobrecarga de sódio aumentou as concentrações de albumina no plasma em ratos do grupo FHS12S, sem alterações nas concentrações de creatinina, ureia, sódio e potássio em relação ao grupo FC12S. Teste-t não pareado; p <0,05.



**Figura 8.** Concentração (A) e excreção de potássio (B) na urina de ratos FHS12S (0,90% de sódio na dieta) e FC12S (0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semanas. Quadrados (FC12S) e círculos (FHS12S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da concentração e excreção de K<sup>+</sup> na urina, com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (a é significativamente diferente de b). ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni; p <0,05.

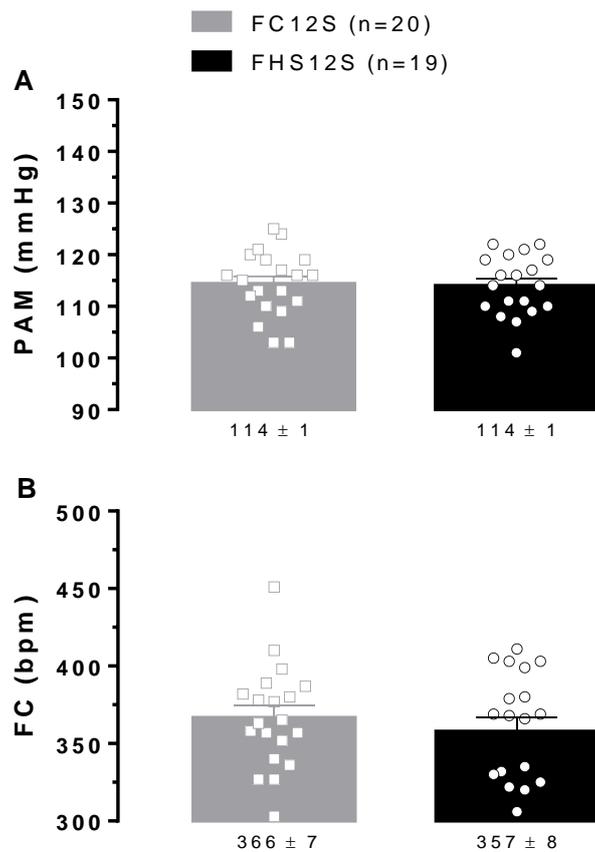
**Tabela 2.** Concentrações de albumina, creatinina, ureia, sódio e potássio em amostras de plasma provenientes de ratos Fischer dos grupos FC12S e FHS12S 12 semanas após o desmame. Testes de albumina, creatinina e ureia foram realizados utilizando kits comerciais (LabClin). As concentrações de sódio e potássio no plasma foram medidas por fotometria de chama.

Plasma	FC12S		FHS12S		p
	Mean±SEM	n	Mean±SEM	n	
Albumina (mg/mL)	22.4±0.1	(10)	25.8±0.1*	(9)	0.0198
Creatinina (mg/mL)	0.0047±0.0002	(4)	0.0040±0.0002	(2)	0.1545
Ureia (mg/mL)	0.53±0.16	(10)	0.47±0.43	(8)	0.1962
Conc. sódio (mmol/L)	143±0.7	(10)	142±1.6	(10)	0.7595
Conc. potássio (mmol/L)	5.0±0.24	(9)	4.5±0.23	(9)	0.0738

\* Diferente de FC12S; Teste-*t* não pareado; p <0,05.

#### 4.1.6. Pressão arterial e frequência cardíaca

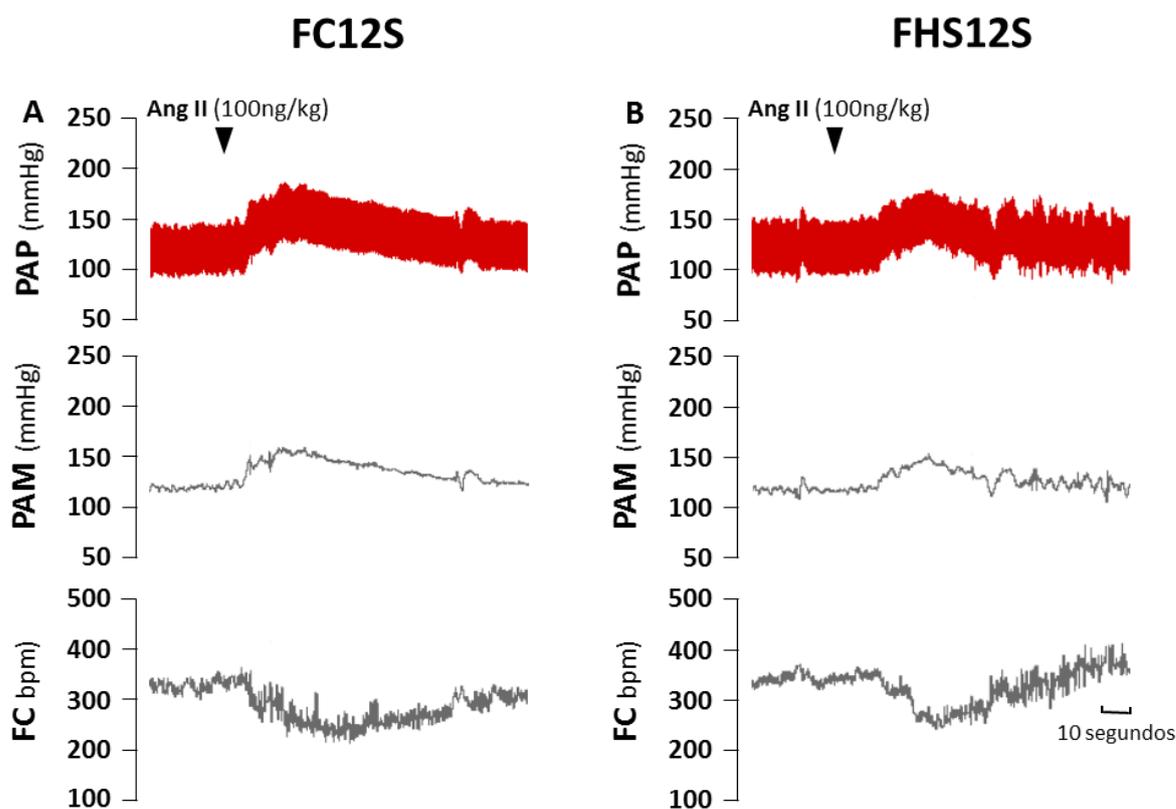
Na figura 9 A e B estão representados os valores basais da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) de ratos Fischer que receberam dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame até 12 semanas. Os resultados mostraram que a dieta com sobrecarga de sódio não produziu alterações nos níveis de PAM [ $114 \pm 1,3$  mmHg; (FC12S) e  $114 \pm 1,3$  mmHg (FHS12S)] ou FC [ $366 \pm 7$  bpm (FC12S) e  $357 \pm 8$  bpm (FHS12S)]. Teste-t não pareado.



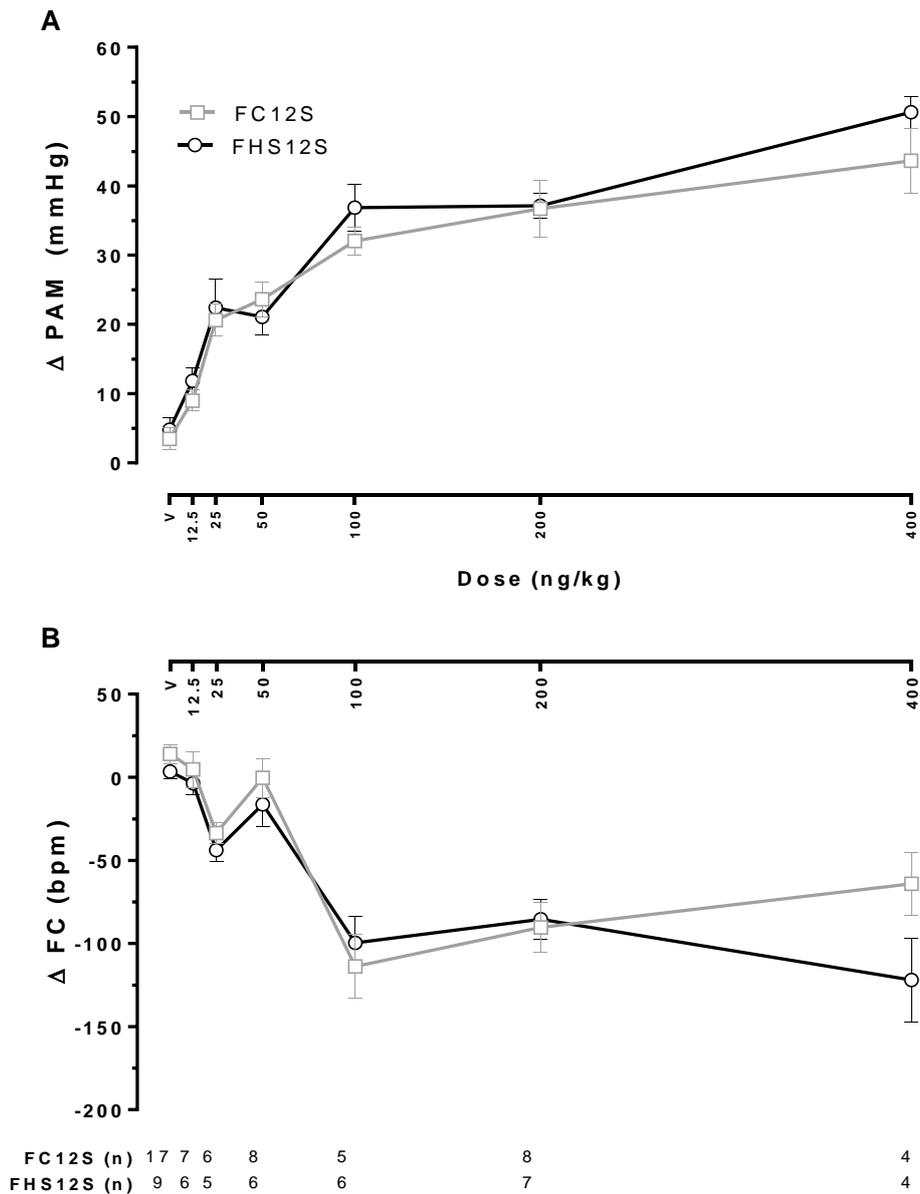
**Figura 9.** Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) de ratos Fischer sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame. Quadrados (FC12S) e círculos (FHS12S) dispersos representam valores individuais de cada animal dos seus respectivos grupos. As barras representam valores médios da PAM ou FC com seu respectivo erro padrão da média. Não houve diferenças significativas entre os grupos.

#### 4.1.7. Resposta à angiotensina II exógena

O perfil das respostas cardiovasculares à injeção de Ang II exógena está apresentado na figura 10, painéis A e B. As doses de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 ng/kg de Ang II geraram respostas pressóricas [ $9 \pm 1,5$ ;  $20 \pm 2,3$ ;  $23 \pm 2,5$ ;  $32 \pm 1,9$ ;  $36 \pm 4,0$ ;  $43 \pm 4,6$  mmHg (FC12S),  $11,8 \pm 1,9$ ;  $22 \pm 4,1$ ;  $21 \pm 2,6$ ;  $36 \pm 3,3$ ;  $37 \pm 1,7$ ;  $50 \pm 2,3$  mmHg (FHS12S)] e bradicárdicas [ $4 \pm 10$ ;  $-33 \pm 6$ ;  $0 \pm 11$ ;  $-113 \pm 19$ ;  $-90 \pm 14$ ;  $-64 \pm 19$  mmHg (FC12S),  $-3 \pm 6$ ;  $-43 \pm 6$ ;  $-16 \pm 12$ ;  $-99 \pm 16$ ;  $-85 \pm 11$ ;  $-122 \pm 25$  mmHg], semelhantes entre os grupos FC12S e FHS12S conforme sumariado na figura 11, painéis A e B. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figura 10.** Traçados representativos de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) mostrando o perfil das respostas cardiovasculares evocadas pela injeção de Ang II (100 ng/kg de massa corporal) em um animal do grupo FC12S (A) e em um do grupo FHS12S (B). As setas indicam o exato momento da injeção.



**Figura 11.** Efeitos cardiovasculares das diferentes doses de Ang II (12,5 25, 50, 100, 200 e 400 ng/kg) injetadas intravenosamente em ratos Fischer sob dieta regular (0,27% de sódio; grupo FC12S) e com sobrecarga de sódio (0,90%) durante 12 semanas. Painei A (resposta pressora à Ang II) e B (resposta bradicárdica à Ang II). Os números de repetições (n) estão indicados na base do gráfico B, alinhados às respectivas doses. Apenas duas doses de Ang II foram administradas em cada animal, respeitando-se um prazo mínimo de 24 horas entre cada dose afim de se evitar taquifilaxia. Por este motivo os n são diferentes entre doses e grupos.

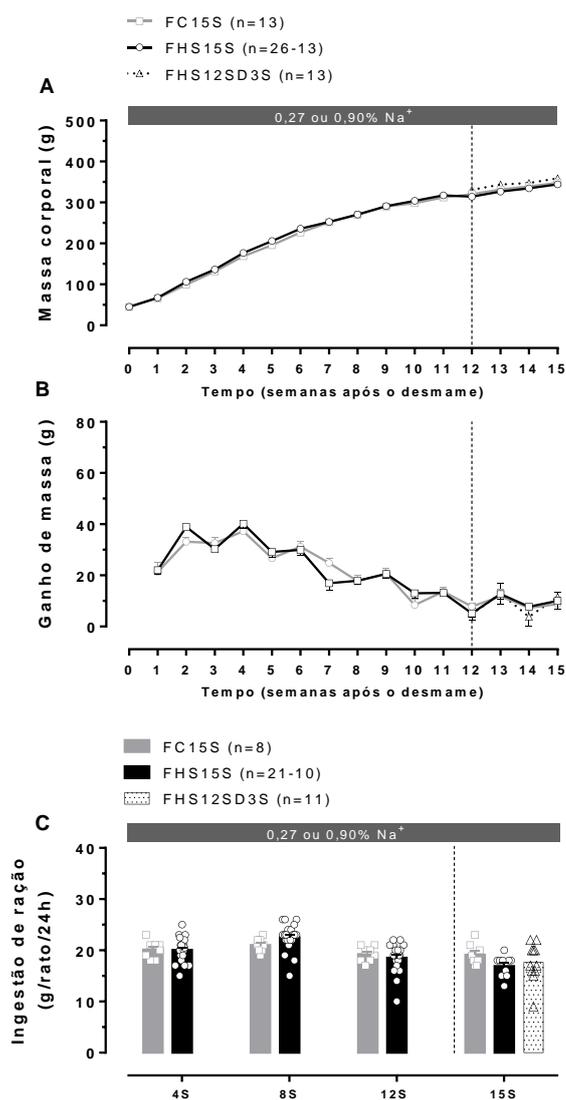
## 4.2 GRUPO FC15S, FHS15S e FHS12SD3S

### 4.2.1. Massa corporal

Ratos sob dieta regular (FC15S) ou com sobrecarga de sódio (FHS15S) apresentaram massa corporal de  $44 \pm 2$  g e  $44 \pm 1$  g respectivamente ao desmame e completaram as 15 semanas de tratamento com  $348 \pm 7$  g e  $344 \pm 6$  g respectivamente. Na figura 12 (A), estão apresentados os dados de massa corporal e ganho de massa (B) dos animais FC15S, FHS15S e FHS12SD3S ao longo de 15 semanas pós-desmame. A dieta com sobrecarga de sódio, 15 semanas após o desmame, não afetou o padrão de crescimento e ganho de massa corporal dos animais. Os resultados de ganho de massa obtidos foram: [ $21 \pm 3,7$ g;  $33 \pm 1,7$ g;  $32 \pm 2,2$ g;  $37 \pm 1,7$ g;  $26 \pm 2,7$ g;  $31 \pm 1,9$ g;  $24 \pm 1,6$ g;  $17 \pm 2,2$ g;  $20 \pm 2,1$ g;  $8 \pm 2,2$ g;  $13 \pm 1,8$ g;  $7 \pm 1,4$ g;  $11 \pm 2,5$ g;  $7 \pm 1,4$ g;  $8 \pm 2,2$ g (FC15S) e  $22 \pm 1,7$ g;  $38 \pm 1,4$ g;  $30 \pm 1,3$ g;  $40 \pm 1,6$ g;  $29 \pm 2,0$ g;  $29 \pm 2,1$ g;  $16 \pm 2,6$ g;  $17 \pm 1,4$ g;  $20 \pm 1,6$ g;  $13 \pm 1,8$ g;  $13 \pm 1,3$ g;  $5 \pm 1,6$ g,  $12 \pm 1,9$ g;  $7 \pm 1,2$ g;  $10 \pm 3,0$ g (FHS15S). O grupo que recebeu dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguida por dieta regular por mais 3 semanas (FHS12SD3S) não teve o padrão de crescimento afetado dentro do período avaliado [ $12 \pm 4,0$ g;  $3 \pm 3,5$ g e  $11 \pm 1,8$ g na 13<sup>a</sup>, 14<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas, respectivamente]. Ratos FHS12SD3S apresentaram massa corporal de  $45 \pm 1$  g ao desmame e terminou com  $358 \pm 5$  g na 15<sup>a</sup> semana. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

### 4.2.2. Ingestão de ração

A ingestão de ração em vinte e quatro horas foi medido em gaiola metabólica e os resultados mostraram que os animais FHS15S e FHS12SD3S consumiram a mesma quantidade de ração que o grupo FC15S (figura 12.C) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas [ $20 \pm 0,6$ ;  $21 \pm 0,4$ ;  $19 \pm 0,5$ ;  $19 \pm 0,7$  g/rato/24h (FC15S),  $20 \pm 0,5$ ;  $22 \pm 0,5$ ;  $18 \pm 0,6$ ;  $16 \pm 0,6$  g/rato/24h (FHS15S) e  $17 \pm 1,3$  g/rato/24h (FHS12SD3S)]. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni. O consumo médio de alimentos em 24 horas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas foi de  $19,8 \pm 0,4$  g/rato/24h para o grupo FC15S,  $19,6 \pm 1,3$  g/rato/24h para o grupo FHS15S e  $19,5 \pm 1,0$  g/rato/24h para o grupo FHS12SD3S. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



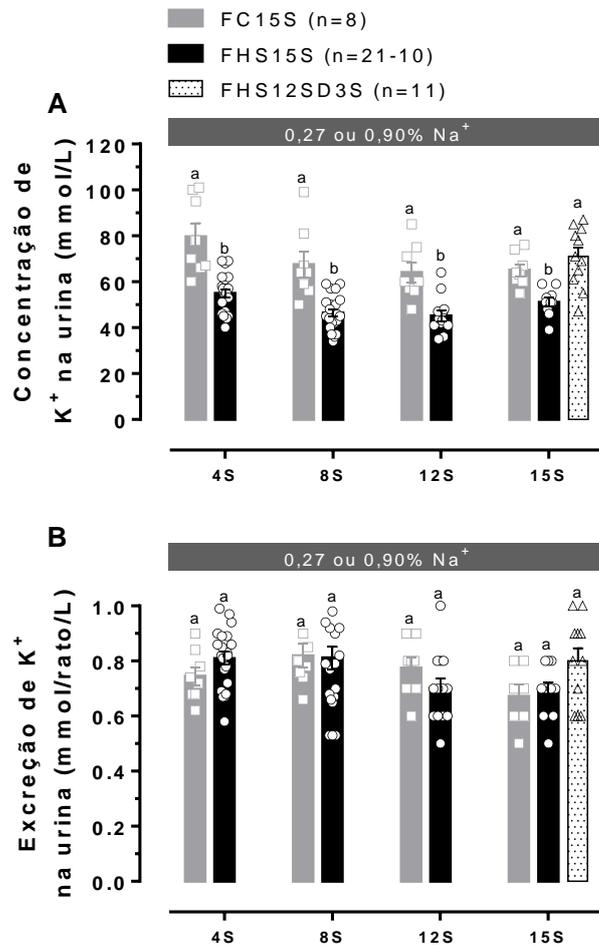
**Figura 12.** Massa Corporal (A), ganho de massa (B) e ingestão de ração (C) dos animais FC15S, FHS15S e FHS12SD3S. As medidas da massa corporal e ganho de massa foram realizadas semanalmente durante 15 semanas, após o desmame. Os ratos foram alimentados com dieta regular (0,27% de sódio; grupo FC15S) e dieta com sobrecarga de sódio (0,90% de sódio; grupo FHS15S) durante 15 semanas ou dieta com sobrecarga de sódio durante 12 semanas, seguido de dieta regular por 3 semanas (0,90%/0,27% de sódio; grupo FHS12SD3S). A ingestão de ração foi medida em gaiola metabólica apenas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas. Dados foram representando como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM).

### 4.2.3. Concentração de K<sup>+</sup> na urina e análises bioquímicas no plasma

A concentração média de potássio (K<sup>+</sup>) na urina em 24 horas na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas foi de  $69 \pm 3,6$  mmol/L para o grupo FC15S e  $49,3 \pm 2,3$  mmol/L para o grupo FHS15S (figura, 13.A). Como esperado, na 15<sup>a</sup> semana não foi observada diferença significativa entre os grupos FC15S e FHS12SD3S [ $65 \pm 2,5$  mmol/L (FC15S) e  $71 \pm 3,9$  mmol/L]. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

Assim como nos animais sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame, não foi observada diferença na excreção de K<sup>+</sup> na urina nos animais que receberam dieta com sobrecarga de sódio por 15 semanas [ $0,80 \pm 0,02$ ;  $0,81 \pm 0,04$ ;  $0,70 \pm 0,03$ ;  $0,69 \pm 0,03$  mmol/rato/L (FC15S)] ou que foram submetidos a dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por uma dieta (0,27% de sódio) por mais 3 semanas [ $0,80 \pm 0,04$  mmol/rato/L (FHS12SD3S)] (figura 13.B). ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

Os resultados sumarizados na tabela 3 mostraram que semelhante ao grupo FHS12S, as concentrações de albumina no plasma em ratos FHS15S foi maior que o observado no controle [ $25,5 \pm 0,1$  mg/mL (FC15S),  $27,8 \pm 0,1$  mg/mL (FHS15S) P = 0.0242] One Way ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni. As concentrações de creatinina foram significativamente menor no grupo FHS12SD3S em relação aos grupos FC15S e FHS15S [ $0,0038 \pm 0,0003$  mg/mL (FC15S),  $0,0035 \pm 0,0003$  mg/mL (FHS15S),  $0,0025 \pm 0,0002$  mg/mL (FHS12SD3S) P = 0,0009. One Way ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figura 13.** Concentração (A) e excreção (B) de potássio na urina de ratos FHS15S (0,90% de sódio na dieta), FC15S (0,27% de sódio na dieta) e FHS12SD3S (0,90%/0,27% de sódio na dieta) na 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> semanas. Quadrados (FC12S), círculos (FHS12S) e triângulos (FHS12SD3S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da concentração e excreção de K<sup>+</sup> na urina, com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (a é significativamente diferente de b). ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni; p <0,05.

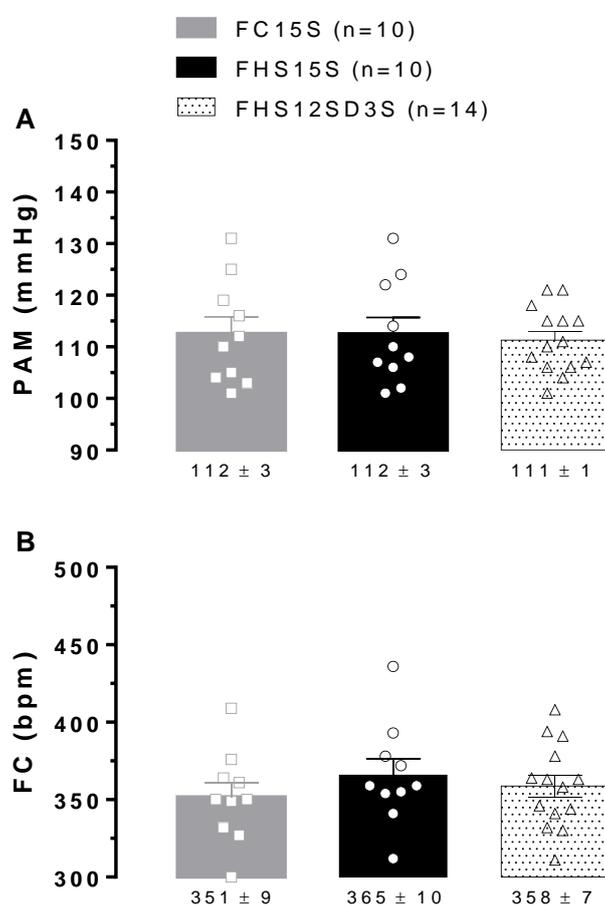
**Tabela 3.** Concentrações de albumina, creatinina, ureia, sódio e potássio em amostras de plasma provenientes de ratos Fischer dos grupos FC15S, FHS15S e FHS12SD3S 15 semanas após o desmame.

Plasma	FC15S		FHS15S			FHS12S3DS		
	Mean±SEM	n	Mean±SEM	n	p	Mean±SEM	n	p
Albumina (mg/mL)	25.5±0.1	(10)	27.8±0.1*	(10)	0.0242	24.5±0.1	(10)	0.7826
Creatinina (mg/mL)	0.0038±0.0003	(7)	0.0035±0.0003	(10)	0.5959	0.0025±0.0002*†	(10)	0.0009
Ureia (mg/mL)	0.50±0.037	(10)	0.50±0.038	(10)	0.9924	0.50±0.038	(10)	0.9958
Conc. sódio (mmol/L)	145±2.0	(10)	145±2.7	(10)	0.3143	150±2.8	(9)	0.3845
Conc. potássio (mmol/L)	5.5±0.50	(10)	5.2±0.52	(10)	0.9999	4.8±0.52	(9)	0.6186

\* Diferente de FC15S; † diferente de FHS15S; One Way ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni; p <0,05.

#### 4.2.4. Pressão arterial e frequência cardíaca

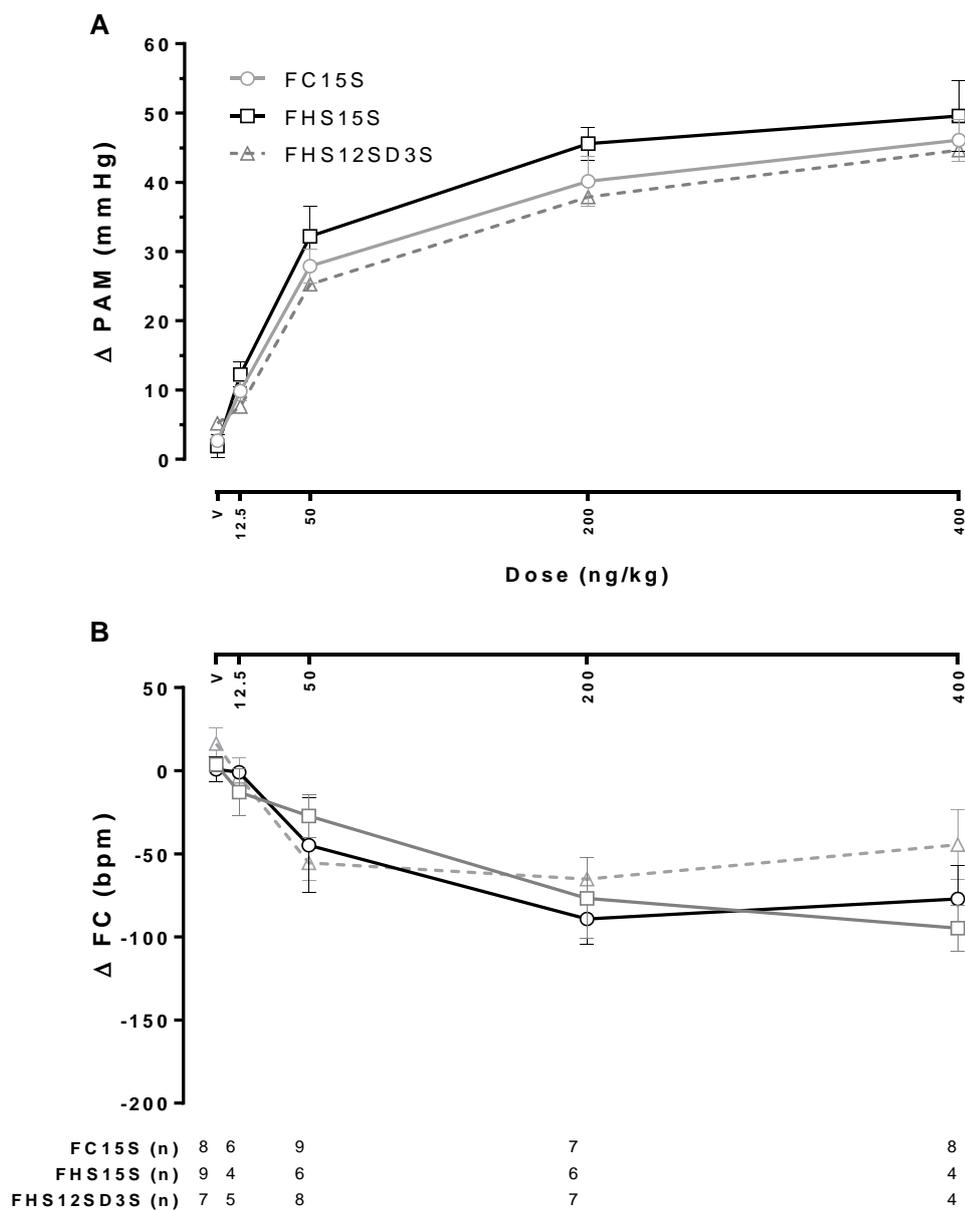
Na figura 14.A e B estão representados os valores basais da PAM e FC de ratos Fischer que receberam dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame até 15 semanas (FHS15S) ou receberam dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por dieta regular por mais 3 semanas (FHS12SD3S). Contudo, não foram observadas diferenças significativas para as comparações realizadas entre os grupos tanto para PAM [ $112 \pm 3$  mmHg (FC15S),  $112 \pm 3$  mmHg (FHS15S),  $111 \pm 1$  mmHg (FHS12SD3S)] ou FC [ $351 \pm 9$  bpm (FC15S),  $365 \pm 10$  bpm (FHS15S),  $358 \pm 7$  bpm (FHS12SD3S)]. One Way ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figura 14.** Pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) de ratos Fischer alimentados com dieta controle (FC15S 0,27% de sódio) ou dieta com sobrecarga de sódio (FHS15S 0,90% de sódio) durante 15 semanas pós-desmame ou alimentados sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas seguido por 3 semanas com dieta regular (FHS12SD3S 0,90%/0,27% de sódio). Quadrados (FC15S), círculos (FHS15S) e triângulos (FHS12SD3S) dispersos representam valores individuais de cada animal nos seus respectivos grupos. A barras representam valores médios da PAM ou FC com seus respectivos erros padrão da média. Não houve diferenças significativas entre os grupos.

#### 4.2.5. Resposta à angiotensina II exógena

As doses de 12,5, 50, 200 e 400ng/kg de Ang II geraram respostas pressóricas [ $9 \pm 1,3$ ;  $27 \pm 2,4$ ;  $40 \pm 3,5$ ;  $46 \pm 3,0$  mmHg (FC15S),  $12,5 \pm 1,7$ ;  $32 \pm 4,3$ ;  $45 \pm 2,3$ ;  $49 \pm 5,0$  mmHg (FHS15S),  $7 \pm 1,6$ ;  $25 \pm 2,9$ ;  $37 \pm 2,6$ ;  $44 \pm 2,4$  mmHg (FHS12SD3S)] e bradicárdicas [ $-12 \pm 14$ ;  $-27 \pm 12$ ;  $-76 \pm 24$ ;  $-94 \pm 13$  bpm (FC15S),  $-1 \pm 3,7$ ;  $-44 \pm 28$ ;  $-89 \pm 15$ ;  $-77 \pm 19$  bpm (FHS15S),  $-3 \pm 11$ ;  $-55 \pm 10$ ;  $-65 \pm 12$ ;  $-44 \pm 21$  bpm (FHS12SD3S)] semelhantes nos grupos FC15S, FHS15S e FHS12SD3S (figura 15, A e B). ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

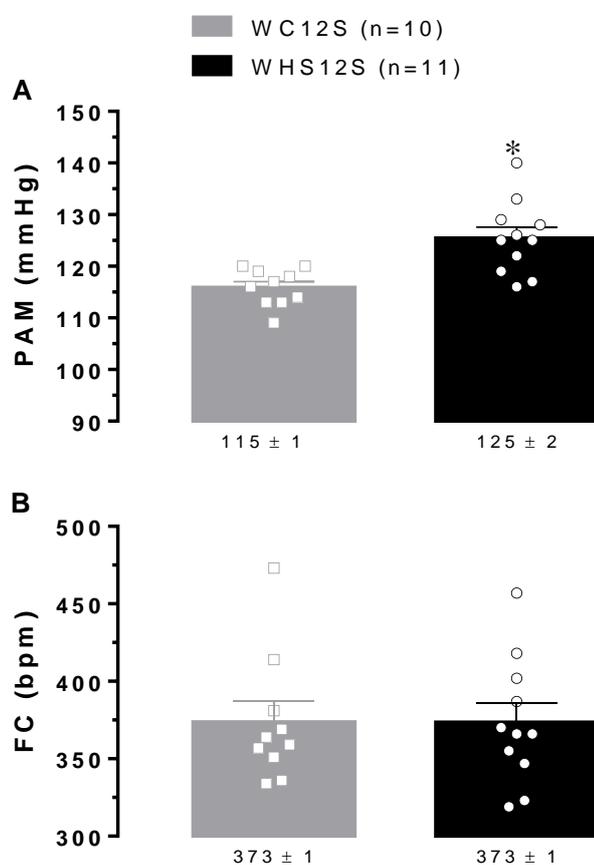


**Figura 15.** Efeitos cardiovasculares produzidos pela injeção endovenosa de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos dos grupos FC15S, FHS15S e FHS12SD3S. Painel A: resposta pressora à Ang II; painel B: respostas bradicárdicas à Ang II. Os números de repetições (n) estão indicados na base do gráfico B, alinhados às respectivas doses. Apenas duas doses de Ang II foram administradas em cada animal, respeitando-se uma prazo mínimo de 24 horas entre cada dose afim de se evitar taquifilaxia. Por este motivo os n são diferentes entre doses e grupos.

### 4.3 GRUPO WC12S e WHS12S

#### 4.3.1. Pressão arterial e frequência cardíaca

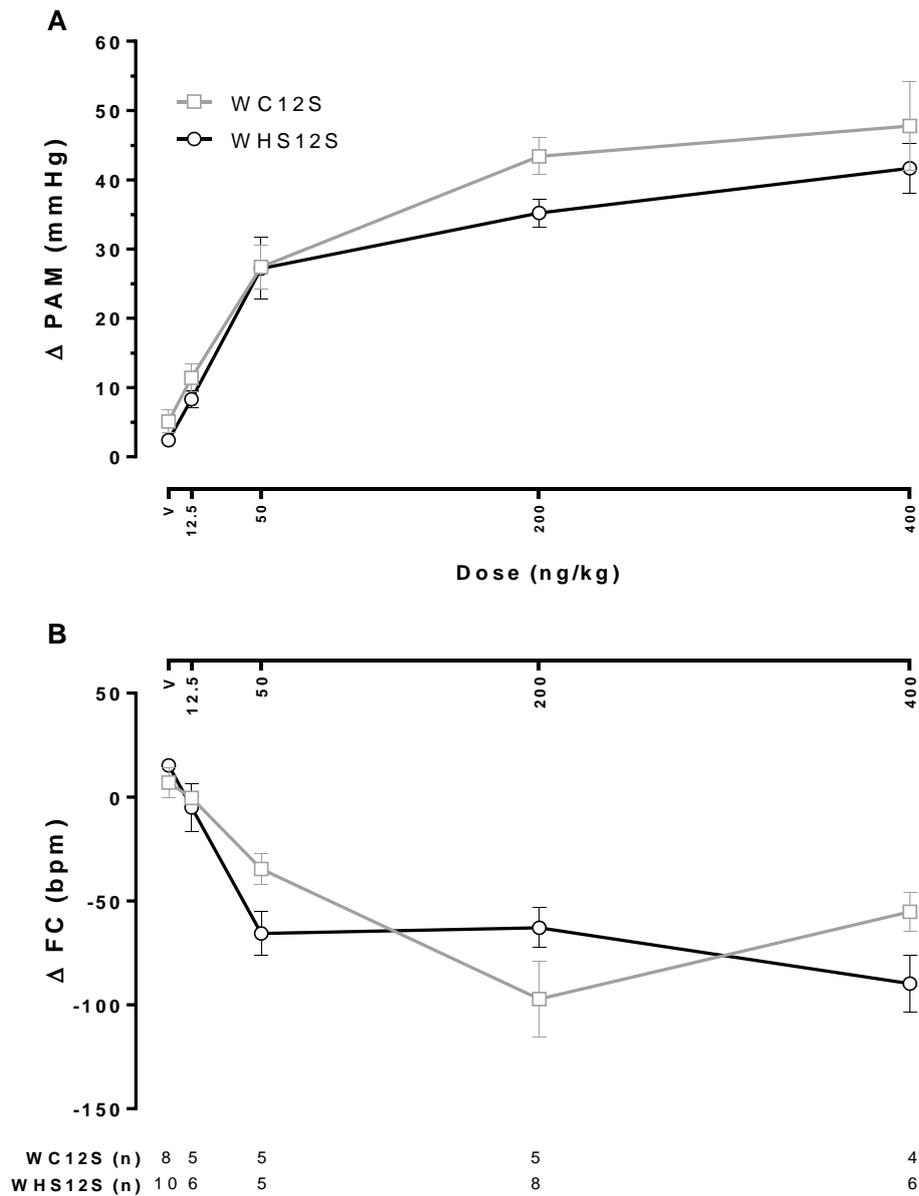
Na figura 16, painéis A e B, estão representados os valores basais da PAM e FC de ratos Wistar que receberam dieta com sobrecarga de sódio, a partir do desmame, por 12 semanas. Diferentemente do que observado para ratos da linhagem Fischer, ratos Wistar tiveram aumentos significativos da PAM [ $115 \pm 1$  mmHg (WC12S) e  $125 \pm 2$  mmHg (WHS12S) ( $P = 0,0011$ )] sem alterações na FC. Teste-t não pareado.



**Figura 16.** Pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) de ratos Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame. Quadrados (WC12S) e círculos (WHS12S) dispersos representam valores individuais de cada animal em cada grupo. As barras representam valores médios da PAM ou FC com seus respectivos erros padrão da média. \* Diferente de controle;  $p < 0,05$ ; Teste-t não pareado.

#### 4.3.2. Resposta à angiotensina II exógena

As doses de 12,5, 50, 200 e 400ng/kg de Ang II produziram respostas pressóricas [ $11 \pm 2,0$ ;  $27 \pm 3,1$ ;  $43 \pm 2,6$ ;  $47 \pm 6,4$  mmHg (WC12S),  $8 \pm 1,2$ ;  $27 \pm 4,4$ ;  $35 \pm 1,9$ ;  $41 \pm 3,6$  mmHg (WHS12S) e bradicárdicas [ $0 \pm 3,0$ ;  $-34 \pm 7,3$ ;  $-97 \pm 18$ ;  $-55 \pm 9,4$  bpm (WC12S),  $-4,9 \pm 11$ ;  $-65 \pm 10$ ;  $-62 \pm 9,5$ ;  $-89 \pm 13$  bpm (WHS12S)] semelhantes entre os grupos WHS12S e WC12S (figura 17, A e B). ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

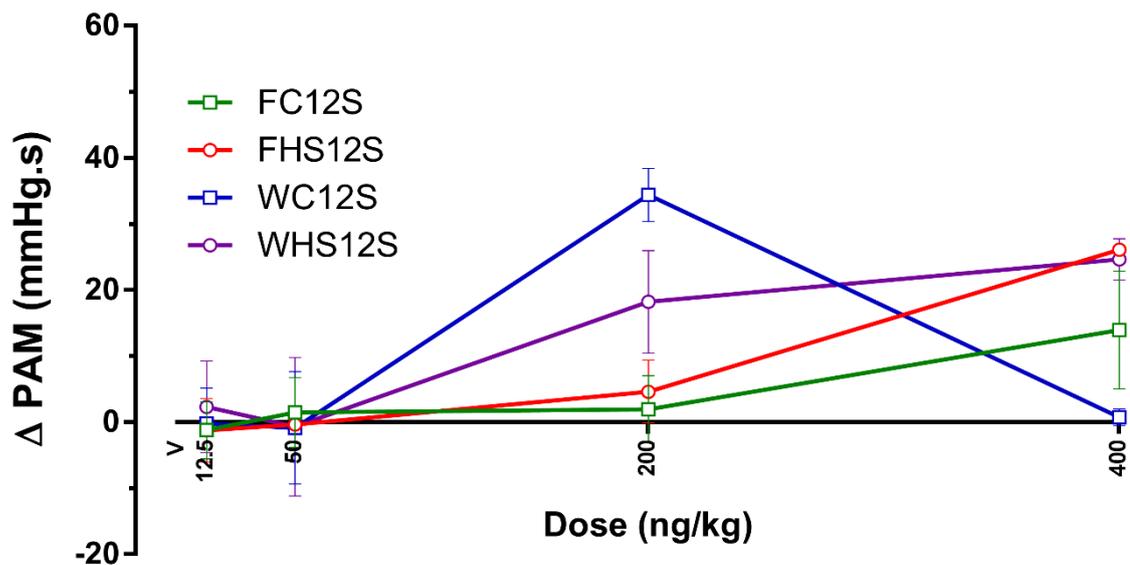


**Figura 17.** Efeitos cardiovasculares produzidos por injeções endovenosas de diferentes doses de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos Wistar dos grupos WC12S e WHS12S. Painel A: resposta pressora à Ang II; painel B: resposta bradicárdica à Ang II. Os números de repetições (n) estão indicados na base do gráfico B, alinhados às respectivas doses. Apenas duas doses de Ang II foram administradas em cada animal, respeitando-se um prazo mínimo de 24 horas entre cada dose afim de se evitar taquifilaxia. Por este motivo os n são diferentes entre doses e grupos.

#### 4.4 GRUPO FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S

##### 4.4.1 Curva dose resposta

As doses de 12,5, 50, 200 e 400ng/kg de Ang II produziram respostas pressóricas semelhantes entre os grupos FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S (figura 18). Dose de 12,5ng/kg [-1,2 ± 4,3 mmHg.s (FC12S); -1,2 ± 4,7 mmHg.s (FHS12S); -0,2 ± 5,3 mmHg.s (WC12S); 2,3 ± 6,9 mmHg.s (WHS12S)] 50ng/kg [1,4 ± 5,3 mmHg.s; -0,3 ± 0,3 mmHg.s; -0,86 ± 8,4 mmHg.s; -0,6 ± 10 mmHg.s; FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S, respectivamente]; 200ng [1,9 ± 5,1 mmHg.s (FC12S); 4,6 ± 4,7 mmHg.s (FHS12S); 34,4 ± 4,0 mmHg.s (WC12S); ± 5,3 mmHg.s; 18,2 ± 7,7 mmHg.s (WHS1S)]; 400ng/kg [13,9 ± 8,9 mmHg.s (FC12S); 26,1mmHg.s (FHS12S); 0,7 ± 1,2 mmHg.s (WC12S); 24,6 ± 3,1 mmHg.s (WHS12S)]. ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

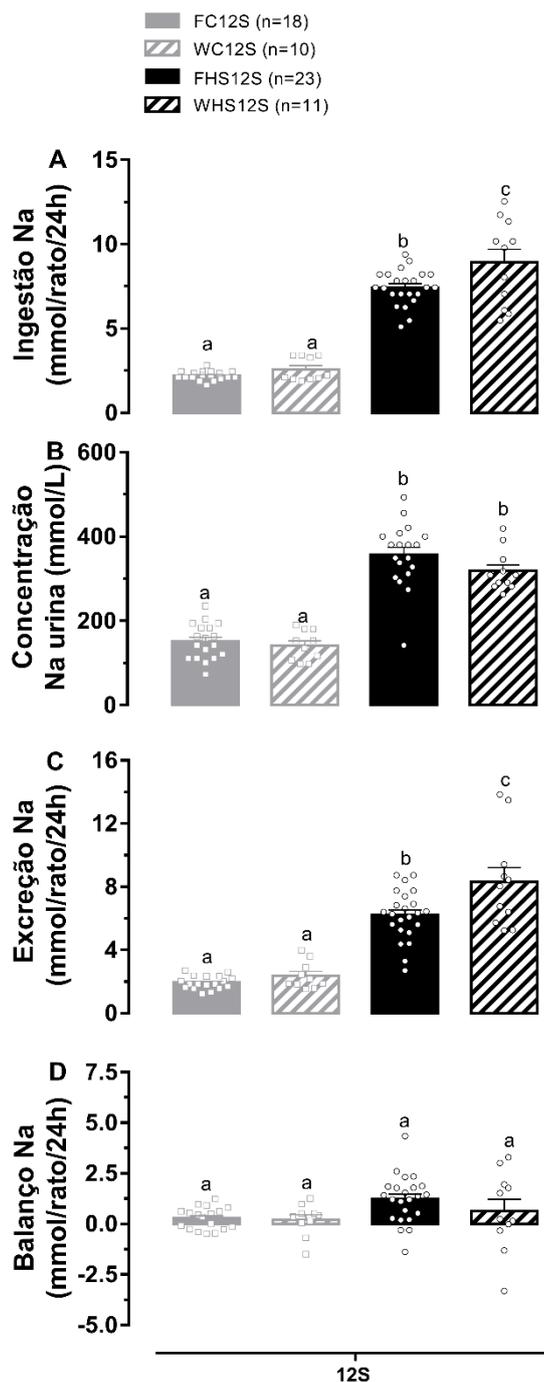


FC12S (n)	5	5	2	2
FHS12S (n)	3	2	3	1
WC12S (n)	5	4	3	2
WHS12S (n)	6	3	5	2

**Figura 18.** Curva dose resposta produzida por injeções endovenosas de diferentes doses de Ang II (12,5, 50, 200 e 400 ng/kg) em ratos FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S. Resposta pressora à Ang II. Os números de repetições (n) estão indicados na base do gráfico, alinhados às respectivas doses. Apenas duas doses de Ang II foram administradas em cada animal, respeitando-se um prazo mínimo de 24 horas entre cada dose afim de se evitar taquifilaxia. Por este motivo os n são diferentes entre doses e grupos.

#### **4.4.2. Ingestão de sódio, concentração e excreção de sódio na urina, balanço de sódio – 12ª semana**

O consumo médio de sódio em 24 horas foi de  $7,4 \pm 0,2$  mmol/rato no grupo FHS12S e  $8,9 \pm 0,2$  mmol/rato no grupo WHS12S (Gomes, 2015). As comparações entre os grupos encontram-se detalhadas na figura 19.A. A concentração e a excreção de sódio foram proporcionais a quantidade de sódio ingerida pelos grupos, logo o grupo WHS12S excretou mais sódio que o grupo FHS12S [ $6,2 \pm 0,3$  mmol/rato/24h (FHS12S),  $8,2 \pm 0,9$  mmol/rato/24h (WHS12S)] (figura 19 B e C). One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni;  $p < 0,05$ . O balanço de sódio se manteve igual entre os grupos independente da dieta com sobrecarga de sódio ou linhagem de rato [ $0,27 \pm 0,1$  mmol/rato/24h (FC12S),  $0,20 \pm 0,2$  mmol/rato/24h (WC12S),  $1,2 \pm 0,2$  mmol/rato/24h (FHS12S),  $0,63 \pm 0,5$  mmol/rato/24h (WHS12S)]. One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



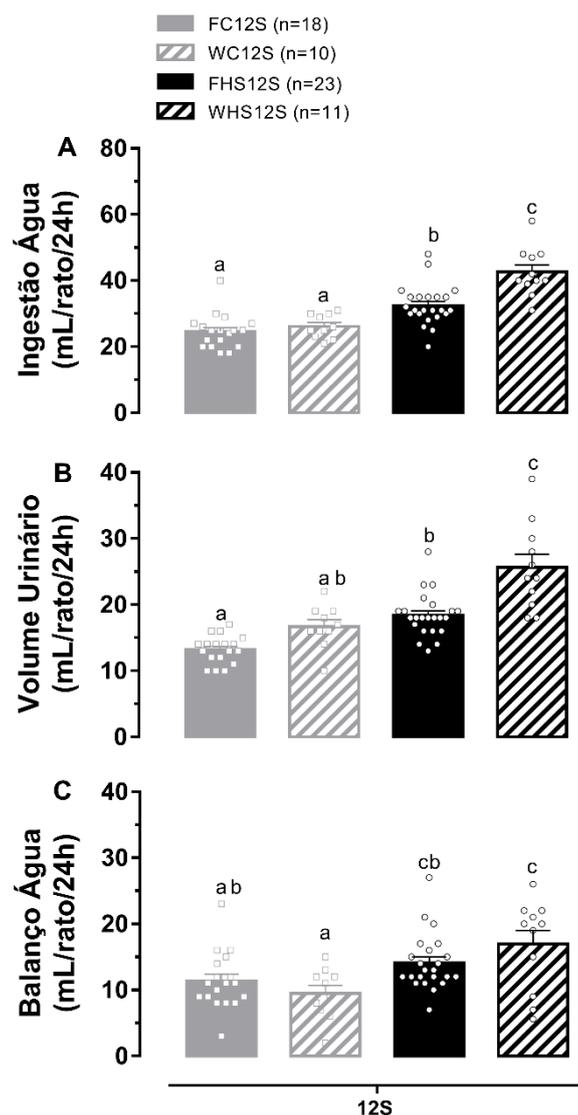
**Figura 19.** Ingestão de sódio, concentração de sódio na urina, excreção de sódio e balanço de sódio em ratos FHS12S, WHS12S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, WC12S (0,27% de sódio na dieta) na 12ª semana (A-D). Quadrados (FC12S, WC12S), círculos (FHS12S, WHS12S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da ingestão de Na, concentração de Na na urina, excreção de Na e balanço de Na, com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (letras iguais não apresentam diferenças significativas e letras diferentes representam diferenças significativas. (a é significativamente diferente de b e c; b é ≠ c) . One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni;  $p < 0,05$ .

#### 4.4.3. Ingestão de água, volume urinário e balanço de água – 12ª semana

A ingestão de água na 12ª semana foi maior nos animais que receberam a dieta com sobrecarga de sódio (FHS12S e WHS12S). Além disso, os animais do grupo WHS12S (Gomes, 2015) ingeriram mais água que os animais do grupo FHS12S [ $32 \pm 1,2$  mmol/rato/24h (FHS12S) e  $42 \pm 2,1$  mmol/rato/24h (WHS12S)  $P < 0,05$ ]. One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

O volume urinário foi maior no grupo WHS12S em relação aos demais grupos. Curiosamente o volume urinário foi menor no grupo FC12S se comparado com o grupo WC12S. E apesar da diferença da ingestão de água entre os grupos WC12S e FHS12S [ $26 \pm 1,1$  mL/rato/24h (WC12S),  $32 \pm 1,2$  mL/rato/24h (FHS12S)  $P = 0,0006$ ] não foi observada diferença significativa do volume urinário [ $16 \pm 1,0$  mmol/rato/24h (WC12S),  $18 \pm 0,6$  mmol/rato/24h (FHS12S)] conforme mostrado na figura 20 (A e B). One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni.

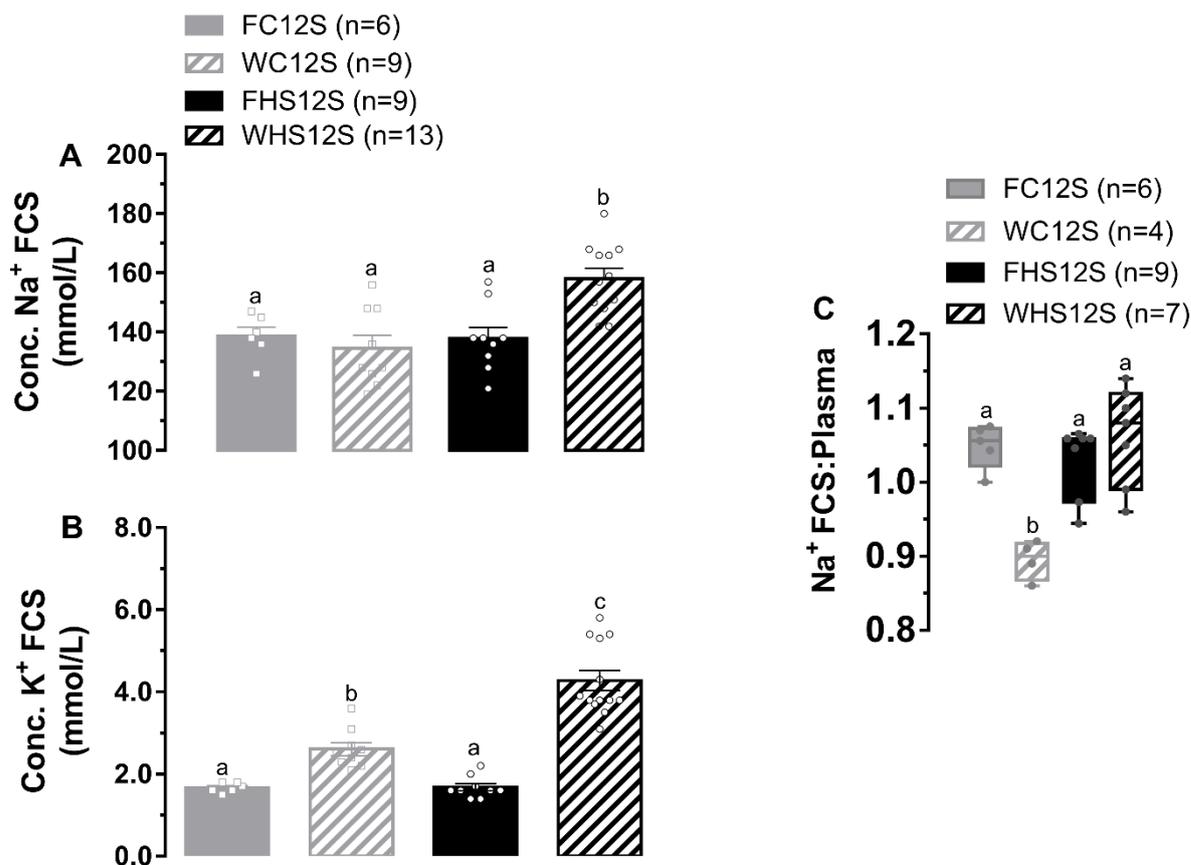
O balanço de água foi igual entre os grupos que receberam dieta controle (0,27%) e entre os grupos que receberam dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) independente da linhagem. Entretanto, o balanço de água também foi igual entre os grupos FC12S e FHS12S [ $11 \pm 1,0$  mL/rato/24h (FC12S);  $14 \pm 0,8$  mL/rato/24h (FHS12S),  $9 \pm 1,2$  mL/rato/24h (WC12S),  $16 \pm 2,0$  mL/rato/24h (WHS12S)  $p < 0,05$ ] (figura 20. C). One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figura 20.** Ingestão de água, volume urinário e balanço de água em ratos FHS12S, WHS12S (0,90% de sódio na dieta); FC12S, WC12S (0,27% de sódio na dieta) na 12ª semana (A-C). Quadrados (FC12S, WC12S), círculos (FHS12S, WHS15S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da ingestão de água, volume urinário e balanço de água com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas. (letras iguais não apresentam diferenças significativas e letras diferentes representam diferenças significativas. (a é significativamente diferente de b, c e d; b é ≠ c; c é ≠ d) One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni;  $p < 0,05$ .

#### 4.4.4. Fluido cerebrospinal

As concentrações de sódio no FCS foram significativamente aumentadas no rato Wistar que foi submetido a dieta com sobrecarga de sódio em relação ao seu controle (WC12S) e também aos grupos FC12S e FHS12S [ $158 \pm 3,4$  mmol/L (WHS12S),  $134 \pm 4,4$  mmol/L (WC12S),  $138 \pm 3,1$  mmol/L (FC12S),  $137 \pm 3,8$  mmol/L (FHS12S)  $P < 0,05$ ] (figura 21. A). Os ratos da linhagem Wistar tem uma concentração maior de potássio no FCS em relação ao rato Fischer independente da dieta (0,27% ou 0,90% de sódio). Entretanto, quando ratos Wistar são submetidos a dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) a concentração de potássio no FCS é ainda maior do que os animais do grupo WC12S [ $2,6 \pm 0,16$  mmol/L (WC12S),  $4,2 \pm 0,24$  mmol/L (WHS12S),  $1,6 \pm 0,05$  mmol/L (FC12S),  $1,6 \pm 0,09$  mmol/L (FHS12S)  $P < 0,05$ ] (figura 20. B). One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



**Figure 21.** Concentração de sódio, potássio e relação da concentração de sódio FCS/plasma em ratos do grupo FC12S, WC12S, FHS12S e WHS12S na 12<sup>a</sup> semana pós-desmame (A-C). Quadrados (FC12S, WC12S), círculos (FHS12S, WHS15S) dispersos representam valores individuais e as barras representam valores médios da concentração de sódio e potássio no FCS com seus respectivos erros padrão da média para cada grupo. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas. As diferenças entre as médias são indicadas por letras sobre as colunas (letras iguais não apresentam diferenças significativas e letras diferentes representam diferenças significativas. (**a** é significativamente diferente de **b** e **c**; **b** é ≠ **c**). One-Way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni;  $p < 0,05$ .

## 5. Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo revelaram que ratos da linhagem Fischer submetidos a dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) até 12 e 15 semanas pós-desmame apresentaram níveis normais de FC e PAM. No entanto, ratos da linhagem Wistar submetidos à mesma dieta até 12 semanas pós-desmame apresentaram níveis elevados de PAM basal, sem alterações da FC, consistente com dados anteriores do laboratório (Gomes, 2015). Além disso, nossos dados mostraram que a sobrecarga de sódio na dieta não alterou a sensibilidade à Ang II exógena em ambas as linhagens de ratos (Fischer e Wistar) independentemente do aumento nos níveis pressóricos.

A dieta com sobrecarga de sódio (0,90%), a partir de 21 dias de idade até 12 e 15 semanas, não alterou a ingestão de ração e o ganho de massa corporal em ratos da linhagem Fischer (como mostrado na figura 05 e 12). No estudo de Moreira e colaboradores, com ratos da linhagem Wistar submetidos a exposição crônica de salina hipertônica por 8 semanas, os animais apresentaram uma diminuição da ingestão de ração e da massa corporal (Moreira *et al.*, 2014). Essa redução da massa corporal poderia estar relacionada à diminuição da ingestão de ração o que sugeriria restrição alimentar no grupo que ingere apenas salina. Tal efeito poderia ser resultado da incapacidade dos animais que ingerem apenas salina controlarem de forma adequada a osmolaridade dos fluidos corporais. Apesar de ser um modelo eficaz em induzir hipertensão sal-dependente, o modelo de Moreira e colaboradores representa desafios aos sistemas fisiológicos que não são comumente observados em humanos sob dieta com sobrecarga de sódio. Desta forma, o modelo estudado neste trabalho visa avaliar os efeitos da dieta com sobrecarga de sódio *per se*, de forma a mimetizar as condições observadas em populações humanas que ingerem quantidades de sódio acima do recomendado e sem a presença de outras co-morbidades que possam contribuir com o aumento dos níveis pressóricos. A procura e desenvolvimento de tal modelo animal vem sendo um desafio no campo da fisiologia visto que ratos ingerindo apenas sódio em quantidades equivalentes às de populações humanas raramente desenvolvem hipertensão. Condições extremas no que diz respeito à quantidade de sódio ingerida, mesmo em ratos ditos “sal-sensíveis” (Dahl-S), ou a presença de co-

fatores são requeridos para o desenvolvimento de hipertensão. Dessa forma, a transposição dos resultados para populações humanas é por vezes complexo e sem paralelo.

Todos os grupos experimentais receberam ração triturada com adição ou não de cloreto de sódio e tiveram livre acesso à água de torneira. Como esperado, a concentração de sódio e excreção de sódio na urina foram aumentadas de forma proporcional à ingestão de sódio nos grupos sob dieta com sobrecarga de sódio. Em nossos estudos foram realizadas alterações no balanço de sódio em todas as semanas analisadas nos grupos FHS12S e FHS15S. A quantidade de sódio adicionada à dieta (0,67% de sódio) foi suficiente para estimular a sede e provocar um aumento no volume urinário em todas as semanas analisadas nos grupos FHS12S e FHS15S. O balanço de água foi alterado somente na 8ª semana nos animais que foram submetidos a dieta com sobrecarga de sódio.

Estudos realizados por Muntzel e colaboradores com ratos Fischer encontraram resultados similares na concentração de sódio plasmático, como observado em nosso estudo com animais Fischer. (Muntzel *et al.*, 1994). Assim como observado também em ratos “sal-resistentes” (Dahl-R) e “sal-sensíveis” (Dahl-S) submetidos à 0,4% de NaCl e 8% de NaCl apresentaram concentrações similares de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> plasmático que os animais do nosso estudo (Ferrari e Mark, 1987). Resultados semelhantes da concentração de sódio plasmático também foram encontrados em estudos realizados por Moreira e colaboradores (Moreira *et al.*, 2014). Já é sabido que o aumento da concentração de sódio no plasma reduz a secreção de renina pelos rins, que por sua vez diminui a Angiotensina II plasmática. Conseqüentemente ocorre uma diminuição da liberação de aldosterona pelo córtex da supra renal, que é responsável pela reabsorção de Na<sup>+</sup>. Desta forma, os níveis plasmáticos de sódio são mantidos dentro de estreitos limites de variação (Rocha *et al.*, 1999). A função renal de ratos alimentados com uma dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) logo após desmame, até 12 e 15 semanas de idade parece operar dentro do intervalo normal, uma vez que as concentrações plasmáticas de ureia e creatinina não foram diferentes daquelas encontradas em ratos alimentados com uma dieta contendo 0,27% de sódio.

As análises bioquímicas mostraram um aumento nas concentrações plasmáticas de albumina tanto nos animais que foram submetidos à dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas pós-desmame quanto nos animais que foram submetidos à mesma dieta por 15 semanas pós-desmame. Já se sabe que a albumina representa 70% da pressão osmótica coloidal e tem a capacidade de atrair e reter cátions ( $\text{Na}^+$ ) no compartimento vascular (Busher, 1990). Além disso, a desidratação aguda é capaz de provocar aumento nos níveis séricos de albumina (Busher, 1990). Em nosso estudo a dieta com sobrecarga de sódio foi capaz de aumentar a concentração sérica de albumina além do aumento do balanço de sódio nesses animais. Esses dados podem indicar uma possível desidratação de forma crônica nesses animais que foram submetidos a dieta com sobrecarga de sódio.

Um estudo recente realizado por Campanozzi e colaboradores (Campanozzi *et al.*, 2015) demonstrou a importância da proporção da ingestão de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  na dieta com a manutenção dos níveis da pressão arterial. Nossos resultados mostraram que a concentração de  $\text{K}^+$  na urina é menor no grupo que ingeriu a dieta com sobrecarga de sódio em relação ao seu controle. No entanto, a excreção de  $\text{K}^+$  na urina foi similar entre os grupos, em consequência do maior volume urinário no grupo sob dieta com sobrecarga de sódio. Dados ainda não publicados de nosso laboratório realizado com ratos da linhagem Wistar submetidos também à dieta com sobrecarga de sódio 0,90% tiveram resultados semelhantes em relação à concentração e excreção de  $\text{K}^+$  na urina (Gomes, 2015).

O aumento na ingestão de sódio (0,90%) não induziu hipertensão em ratos da linhagem Fischer (como mostrado na figura 7). Além disso, um tempo maior de exposição ao sódio (15 semanas) também não produziu impacto na PAM e na FC. A troca da dieta no grupo FHS12SD3S também não produziu impacto nos parâmetros cardiovasculares analisados. Por outro lado, ratos da linhagem Wistar que foram submetidos a dieta com sobrecarga de sódio apresentaram aumento nos níveis pressóricos (como mostrado na figura 18) se comparado com seu controle. As diferenças encontradas nos níveis pressóricos entre as duas linhagens de ratos Fischer e Wistar submetidos à dieta com 0,90% de sódio se assemelham com as diferenças encontradas em ratos Dahl-R e Dahl-S que foram submetidos à dieta com 8% de NaCl (Nakamura e Cowley, 1989). A dieta com sobrecarga de sódio foi

acompanhada por um aumento na concentração de sódio e potássio no FCS, assim como aumento nos níveis pressóricos somente em ratos Wistar (Gomes, 2015). Dados da literatura têm observado também o aumento da concentração de Na<sup>+</sup> no FCS em ratos Dahl-S alimentados com uma dieta com sobrecarga de sódio (Nakamura e Cowley, 1989). Entretanto, ratos Dahl-R (Nakamura e Cowley, 1989) e ratos da linhagem Fischer (como apresentado pelo nosso estudo), a concentração de sódio e potássio no FCS se manteve inalterada, assim como os níveis pressóricos, independente da dieta com sobrecarga de sódio. Nosso estudo mostra que a concentração de Na<sup>+</sup> no FCS é igual entre as linhagens Fischer e Wistar submetidos a dieta controle (0,27% de sódio) e a concentração de Na<sup>+</sup> no FCS se mantém inalterada em animais Fischer submetidos à dieta com sobrecarga de sódio (0,90%). Entretanto, foi observado um aumento na concentração de Na<sup>+</sup> no FCS em ratos Wistar submetidos à mesma dieta com sobrecarga de sódio. Curiosamente, a concentração de K<sup>+</sup> no FCS é maior em ratos da linhagem Wistar se comparado com ratos da linhagem Fischer, independente da dieta (0,27% ou 0,90% de sódio). E a concentração de K<sup>+</sup> no FCS é ainda maior quando os animais da linhagem Wistar são submetidos à dieta com sobrecarga de sódio. Apesar de ratos da linhagem Wistar ingerirem mais sódio do que ratos da linhagem Fischer na 12<sup>a</sup> semana (Gomes, 2015), o balanço de sódio se manteve igual entre as duas linhagens. Em conjunto, os resultados sugerem que alterações nas concentrações de sódio e potássio no FCS podem ter impacto nas respostas cardiocirculatórias em nosso modelo animal.

Os resultados obtidos a partir das injeções endovenosas de Ang II sugerem que a sensibilidade à Ang II exógena não é alterada quando ratos Fischer são submetidos à dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) desde o desmame até 12 semanas e 15 semanas. Além disso, a sensibilidade à Ang II exógena não foi alterada quando ratos Fischer foram submetidos a dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) por 12 semanas seguido de uma dieta regular (0,27% de sódio) por mais 3 semanas. Estudos realizados por Gomide e colaboradores demonstraram que a Ang II, nas doses de 50, 100, 150, 200, 300 ou 400 ng.kg<sup>-1</sup>; (i.v), foi capaz de aumentar a PAM e ter efeitos bradicárdicos similares aos encontrados em nosso estudo (Gomide *et al.*, 2013). Portanto, nossos resultados estão consistentes com o que é reportado pela literatura quanto às respostas evocadas por Ang II exógena em ratos Fischer. A fim de se evitar

taquifilaxia, apenas duas doses de angiotensina II, além do veículo, foram injetados por animal, separadas por um intervalo mínimo de 12h. O mesmo experimento foi realizado com ratos da linhagem Wistar que foram submetidos às mesmas dietas que os animais da linhagem Fischer (0,90% e 0,27% de sódio). Apesar dos níveis pressóricos serem maiores em ratos da linhagem Wistar submetidos a dieta (0,90% de sódio), a sensibilidade à Ang II exógena não foi alterada. A análise da curva dose resposta pela injeção de Ang II, confirmam esses dados. Não sendo observada diferenças significativas entre os grupos (FC12S, FHS12S, WC12S e WHS12S). Estudos de Osborn e colaboradores defendem a ideia de que a primeira ação da Ang II é a vasoconstrição das arteríolas (primeiros minutos) seguida pela reabsorção de sódio (primeiras horas), ativação simpática (dias) e a hipertrofia vascular somente ocorre em semanas (Osborn *et al.*, 2000). De acordo com esse estudo, a injeção de Ang II em nosso modelo animal possivelmente provoca vasoconstrição das arteríolas para se ter um aumento imediato dos níveis pressóricos e uma consequente bradicardia (provavelmente de origem barorreflexa). Portanto, os dados obtidos em nosso estudo sugerem que a vasoconstrição das arteríolas ocorre na mesma intensidade, independentemente da quantidade de sódio ingerida.

Este estudo destaca o fato de que a sensibilidade à Ang II exógena não é alterada em animais submetidos à dieta com sobrecarga de sódio (0,90% de sódio) independente de alterações nos níveis pressóricos causadas pela mesma dieta em ratos da linhagem Wistar. Os nossos resultados também sugerem que alterações nas concentrações de sódio e potássio no FCS podem ter impacto nas respostas cardiocirculatórias em nosso modelo animal.

## 6. Conclusão

Tendo em vista os resultados apresentados no presente estudo, a dieta com sobrecarga de sódio (0,90%) pós-desmame, até o início da vida adulta, provoca aumento nos níveis pressóricos em ratos da linhagem Wistar, mas não o faz em ratos Fischer. A FC não é alterada com a dieta (0,90% de sódio) em ambas as linhagens. A sensibilidade à Ang II exógena não é alterada tanto em ratos da linhagem Wistar como em ratos Fischer submetidos à dieta com sobrecarga de sódio (0,90%). Também sugere-se que alterações da concentração de sódio e potássio no FCS podem ter impacto nos níveis pressóricos em nosso modelo animal.

## 7. Referências

ADAMS, J. M.; BARDGETT, M. E.; STOCKER, S. D. Ventral lamina terminalis mediates enhanced cardiovascular responses of rostral ventrolateral medulla neurons during increased dietary salt. **Hypertension**, v. 54, n. 2, p. 308-14, Aug 2009. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19506102>  
<http://hyper.ahajournals.org/content/54/2/308.full.pdf> >.

ANNONI, E. M. et al. Intermittent electrical stimulation of the right cervical vagus nerve in salt-sensitive hypertensive rats: effects on blood pressure, arrhythmias, and ventricular electrophysiology. **Physiol Rep**, v. 3, n. 8, Aug 2015. ISSN 2051-817X (Electronic)

2051-817X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26265746> >.

BUSHER, J. T. Serum Albumin and globulin. p. 497-499, 1990.

CAMPANOZZI, A. et al. High sodium and low potassium intake among Italian children: relationship with age, body mass and blood pressure. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0121183, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25853242> >.

COLLISTER, J. P. et al. OVLT lesion decreases basal arterial pressure and the chronic hypertensive response to AngII in rats on a high-salt diet. **Physiological reports**, v. 1, n. 5, 2013. ISSN 2051-817X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/phy2.128> >.

DE CASTRO, U. G. M. et al. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats.pdf. **Lipids in Health and Disease** 2013, **12:136**, v. 12, n. 136, 2013.

DE MOURA, R. F. et al. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. **Br J Nutr**, v. 101, n. 8, p. 1178-84, Apr 2009. ISSN 1475-2662 (Electronic)

0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19007450> >.

DRENJANCEVIC-PERIC, I. et al. High-salt diet and hypertension: focus on the renin-angiotensin system. **Kidney Blood Press Res**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 2011. ISSN 1423-0143 (Electronic)

1420-4096 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21071956> >.

FERRARI, A. U.; MARK, A. L. Sensitization of aortic baroreceptors by high salt diet in Dahl salt-resistant rats. **Hypertension**, v. 10, n. 1, p. 55-60, Jul 1987. ISSN 0194-911X (Print)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3596769> >.

FOSS, J. D.; FINK, G. D.; OSBORN, J. W. Reversal of genetic salt-sensitive hypertension by targeted sympathetic ablation. **Hypertension**, v. 61, n. 4, p. 806-11, Apr 2013. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23381790>  
<http://hyper.ahajournals.org/content/61/4/806.full.pdf> >.

GHEZZI, A. C. et al. Metabolic syndrome markers in wistar rats of different ages.pdf. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, 2012.

GOMES, P. M. Hipertensão induzida por dieta contendo 2% de NaCl: Papel do Sistema Nervoso Central. 2015.

GOMIDE, J. M. C. et al. Increased activity of the renin-angiotensin and sympathetic nervous systems is required for regulation of the blood pressure in rats fed a low-protein diet. **Exp Physiol**, v. 98, n. 1, p. 57-66, 2013.

GU, J.-W. W. et al. Long-term High Salt Diet Causes Hypertension and Decreases Renal Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Sprague-Dawley Rats. **Journal of the American Society of Hypertension : JASH**, v. 2, n. 4, p. 275-285, 2008. ISSN 1878-7436. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jash.2008.03.001> >.

GUILD, S. J. et al. High dietary salt and angiotensin II chronically increase renal sympathetic nerve activity: a direct telemetric study. **Hypertension**, v. 59, n. 3, p. 614-20, Mar 2012. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22275533> >.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 5, p. 335-46, May 2006a. ISSN 1471-003X (Print)

1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16760914> >.

\_\_\_\_\_. The sympathetic control of blood pressure. **Nat.Rev.Neurosci.**, v. 7, n. 5, p. 335-346, 2006b. Disponível em: < PM:16760914 >.

HAYWOOD, J. R. et al. Alterations in cerebrospinal fluid sodium and osmolality in rats during one-kidney, one-wrap renal hypertension. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 11, n. 5, p. 545-9, Sep-Oct 1984. ISSN 0305-1870 (Print)

0305-1870 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6525769> >.

HENDEL, M. D.; COLLISTER, J. P. Renal denervation attenuates long-term hypertensive effects of Angiotensin ii in the rat. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 33, n. 12, p. 1225-30, Dec 2006. ISSN 0305-1870 (Print)

0305-1870 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17184505> >.

HUANG, B. S.; LEENEN, F. H. Both brain angiotensin II and "ouabain" contribute to sympathoexcitation and hypertension in Dahl S rats on high salt intake. **Hypertension**, v. 32, n. 6, p. 1028-33, Dec 1998. ISSN 0194-911X (Print)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9856968>

<http://hyper.ahajournals.org/content/hypertensionaha/32/6/1028.full.pdf> >.

KANAGY, N. L.; FINK, G. D. Losartan prevents salt-induced hypertension in reduced renal mass rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 265, n. 3, p. 1131-6, Jun 1993. ISSN 0022-3565 (Print)

0022-3565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8509998> >.

KING, A. J.; FINK, G. D. Chronic low-dose angiotensin II infusion increases venomotor tone by neurogenic mechanisms. **Hypertension**, v. 48, n. 5, p. 927-33, Nov 2006. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17000931> >.

KING, A. J.; OSBORN, J. W.; FINK, G. D. Splanchnic circulation is a critical neural target in angiotensin II salt hypertension in rats. **Hypertension**, v. 50, n. 3, p. 547-56, Sep 2007. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17646575> >.

LEENEN, F. H.; RUZICKA, M.; HUANG, B. S. The brain and salt-sensitive hypertension. **Curr Hypertens Rep**, v. 4, n. 2, p. 129-35, Apr 2002. ISSN 1522-6417 (Print)

1522-6417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11884268> >.

MOLINA, M. D. C. B. et al. Hypertension and salt intake in an urban population. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n. 6, p. 743-750, 2003.

MOREIRA, M. C. S. et al. High sodium intake during postnatal phases induces an increase in arterial blood pressure in adult rats. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 12, p. 1923-1932, 2014. ISSN 0007-1145. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114514002918>

<https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/0095FCA9B71FA6469FCBCC105D7F8BAB/S0007114514002918a.pdf/high-sodium-intake-during-postnatal-phases-induces-an-increase-in-arterial-blood-pressure-in-adult-rats.pdf> >.

MUNTZEL, M. et al. Physiological Correlates of Attenuated Salt Appetite in Fischer 344 Rats. **Physiol Behav**, v. 55, n. 1, p. 77-82, 1994.

NAKAMURA, K.; COWLEY, A. W., JR. Sequential changes of cerebrospinal fluid sodium during the development of hypertension in Dahl rats. **Hypertension**, v. 13, n. 3, p. 243-9, Mar 1989. ISSN 0194-911X (Print)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2921078> >.

OSBORN, J. W.; COLLISTER, J. P.; CARLSON, S. H. Angiotensin and osmoreceptor inputs to the area postrema: role in long-term control of fluid homeostasis and arterial pressure. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 27, n. 5-6, p. 443-9, May-Jun 2000. ISSN 0305-1870 (Print)

0305-1870 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10831251> >.

OSBORN, J. W.; COLLISTER, J. P.; GUZMAN, P. Effect of peripheral sympathetic nerve dysfunction on salt sensitivity of arterial pressure. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 35, n. 3, p. 273-9, Mar 2008. ISSN 1440-1681 (Electronic)

0305-1870 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17973927> >.

OSBORN, J. W.; FINK, G. D. Region-specific changes in sympathetic nerve activity in angiotensin II-salt hypertension in the rat. **Exp Physiol**, v. 95, n. 1, p. 61-8, Jan 2010. ISSN 1469-445X (Electronic)

0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19717492> >.

OSBORN, J. W.; FINK, G. D.; KUROKI, M. T. Neural mechanisms of angiotensin II-salt hypertension: implications for therapies targeting neural control of the splanchnic circulation. **Curr Hypertens Rep**, v. 13, n. 3, p. 221-8, Jun 2011. ISSN 1534-3111 (Electronic)

1522-6417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21298369> >.

OSBORN, J. W. et al. The role of the subfornical organ in angiotensin II-salt hypertension in the rat. **Exp Physiol**, v. 97, n. 1, p. 80-8, Jan 2012. ISSN 1469-445X (Electronic)

0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21967900> >.

ROCHA, M. A. et al. Anteroventral third ventricle (AV3V) lesions alter c-fos expression induced by salt loading. **Brain Research**, v. 829, n. 1-2, p. 197-200, 1999. ISSN 0006-8993. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01366-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01366-9)

< [http://ac.els-cdn.com/S0006899399013669/1-s2.0-S0006899399013669-main.pdf?\\_tid=30172982-a6a6-11e6-b108-00000aab0f6b&acdnat=1478714518\\_f9643b64c743f42a77dc94bbedfac8c6](http://ac.els-cdn.com/S0006899399013669/1-s2.0-S0006899399013669-main.pdf?_tid=30172982-a6a6-11e6-b108-00000aab0f6b&acdnat=1478714518_f9643b64c743f42a77dc94bbedfac8c6) >.

ROSNER, M. H.; BOLTON, W. K. Renal function testing. **Am J Kidney Dis**, v. 47, n. 1, p. 174-83, Jan 2006. ISSN 1523-6838 (Electronic)

0272-6386 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16377400> >.

SOUZA ADE, M. et al. The impact of the reduction of sodium content in processed foods in salt intake in Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 32, n. 2, p. e00064615, Feb 2016. ISSN 1678-4464 (Electronic)

0102-311X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26958820> >.

TONEY, G. M. et al. Does enhanced respiratory-sympathetic coupling contribute to peripheral neural mechanisms of angiotensin II-salt hypertension? **Exp Physiol**, v. 95, n. 5, p. 587-94, May 2010. ISSN 1469-445X (Electronic)

0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20228120> >.

VEČERIĆ, Ž.; CERAR, A. Comparison of Wistar vs. Fischer rat in the incidence of 1,2-dimethylhydrazine induced intestinal tumors.pdf. **Radiol Oncol**, v. 38, n. 3, p. 227-234., 2004.

WEBB, A. A.; GOWRIBAI, K.; MUIR, D. M. Fischer (F-344) rats have different morphology, sensorimotor and locomotor abilities compared to Lewis, Long–Evans, Sprague–Dawley and Wistar rats.pdf>. **Behavioural Brain Research** v. 144, p. 143-156, 2003.

WEHRWEIN, E. A. et al. Role of cardiac sympathetic nerves in blood pressure regulation. **Auton Neurosci**, v. 183, p. 30-5, Jul 2014. ISSN 1872-7484 (Electronic)

1566-0702 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24629351> >.

YOSHIMOTO, M. et al. Chronic angiotensin II infusion causes differential responses in regional sympathetic nerve activity in rats. **Hypertension**, v. 55, n. 3, p. 644-51, Mar 2010. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20100996> >.

ZHANG, M. et al. Endogenous hydrogen peroxide in the hypothalamic paraventricular nucleus regulates neurohormonal excitation in high salt-induced hypertension. **Toxicol Lett**, v. 235, n. 3, p. 206-15, Jun 15 2015. ISSN 1879-3169 (Electronic)

0378-4274 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25891026> >.

## 8. Anexos



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus: Universitário - Morro do Cruzeiro - ICES-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone: (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ufop.ufop.br](mailto:ceua@ufop.ufop.br)



**OFÍCIO CEUA Nº. 151/2014, de 17 de dezembro de 2014**

**Ilustríssimo Senhor  
Professor Doutor Leonardo Máximo Cardoso  
DECBI/UFOP**

Senhor Pesquisador,

Estamos enviando o certificado de aprovação do protocolo "Papel do balanço redox e da GSH per si na manutenção da pressão arterial em ratos alimentados com uma dieta contendo 2% de NaCl".

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do site da CEUA.

Atenciosamente,

*Wanderson Geraldo de Lima*

**Prof. Dr. Wanderson Geraldo de Lima  
Coordenador da CEUA/UFOP.**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ocpp.ufop.br](mailto:ceua@ocpp.ufop.br)



**CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. 2014/63, intitulado "Papel do balanço redox e da GSH per se na manutenção da pressão arterial em ratos alimentados com uma dieta contendo 2% de NaCl", que tem como responsável o Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP.

Este certificado expira em 05/01/2020.

Ouro Preto, 17 de dezembro de 2014.

*Wanderson Geraldo de Lima*

**Prof. Dr. Wanderson Geraldo de Lima**  
**Coordenador da CEUA/UFOP**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone: (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@compp.ufop.br](mailto:ceua@compp.ufop.br)



**OFÍCIO CEUA Nº. 044/2016, de 28 de março de 2016**

**Ilustríssimo(a) Senhor(a)  
Professor(a) Doutor(a) Leonardo Máximo Cardoso  
DECBI/NUPEB/UFOP**

Senhor(a) Pesquisador(a),

Estamos enviando o certificado de aprovação do protocolo nº. **2016/16**, intitulado **"Respostas cardiocirculatórias à injeção endovenosa de angiotensina II em ratos Fischer sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame."**.

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do site da CEUA.

Atenciosamente,

**Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker  
Coordenadora da CEUA/UFOP.**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone: (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ufop.br](mailto:ceua@ufop.br)



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. 2016/16, intitulado "Respostas cardiocirculatórias à injeção endovenosa de angiotensina II em ratos Fischer sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame.", que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). **Leonardo Máximo Cardoso**, foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados				
Espécie/linhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo	Procedência
Fischer	475	21 dias	Macho	CCA

Restrição de dieta: ( ) sim ( X ) não

Especificar: *dieta NUVILAB comercial ou dieta NUVILAB comercial adicionada de 1,6% de NaCl P.A.*

**Este Certificado expira em: 01/10/2018**

Ouro Preto, 28 de março de 2016.

Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker  
Coordenadora da CEUA/UFOP



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35100-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone: (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ufop.ufop.br](mailto:ceua@ufop.ufop.br)



**OFÍCIO CEUA Nº. 045/2016, de 28 de março de 2016**

**Ilustríssimo(a) Senhor(a)**

**Professor(a) Doutor(a) Leonardo Máximo Cardoso  
DECBI/NUPEB/UFOP**

Senhor(a) Pesquisador(a),

Estamos enviando o certificado de aprovação do protocolo nº. 2016/15, intitulado "*Respostas cardiocirculatórias à injeção endovenosa de angiotensina II em ratos Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame*".

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do site da CEUA.

Atenciosamente,

**Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker  
Coordenadora da CEUA/UFOP.**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ufop.br](mailto:ceua@ufop.br)



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. 2016/15, intitulado "Respostas cardiocirculatórias à injeção endovenosa de angiotensina II em ratos Wistar sob dieta com sobrecarga de sódio a partir do desmame", que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). Leonardo Máximo Cardoso, foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP - CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados				
Espécie/Inhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo	Procedência
Wistar	475	21 dias	Macho	CCA

Restrição de dieta: ( ) sim ( X ) não

Especificar: dieta NUVILAB comercial ou dieta NUVILAB comercial adicionada de 1,6% de NaCl P.A.

Este Certificado expira em: 01/10/2018

Ouro Preto, 28 de março de 2016.

Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker  
Coordenadora da CEUA/UFOP