



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM L-ARGININA  
E BENAZEPRIL ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO  
SOBRE MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS COM  
HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**

Otávio Lélio de Jesus da Silva

**VITÓRIA – ES**

**2022**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

L541e Lélío de Jesus da Silva, Otavio, 1994-  
EFEITOS DO TRATAMENTO COM L-ARGININA E  
BENAZEPRIL ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO SOBRE  
MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS COM HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR / Otavio Lélío de Jesus da Silva. - 2022.  
70 f. : il.

Orientadora: Sônia Alves Gouvêa.  
Coorientador: Vinicius Mengal.  
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Hipertensão de Goldblatt. 2. Hipertensão renovascular. I.  
Alves Gouvêa, Sônia. II. Mengal, Vinicius. III. Universidade  
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV.  
Título.

CDU: 61

---

Otavio Lélío de Jesus da Silva

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM L-ARGININA  
E BENAZEPRIL ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO  
SOBRE MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS COM  
HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.  
Orientadora: Profa. Dra. Sônia Alves Gouvêa

**VITÓRIA – ES**

**2022**

# **EFEITOS DO TRATAMENTO COM L-ARGININA E BENAZEPRIL ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO SOBRE MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Aprovado em: 26 de AGOSTO de 2022.

Profa. Dra. Sonia Alves Gouvêa – Orientadora  
Universidade Federal do Espírito Santo – UFES

Prof. Dr. Vinicius Mengal – Coorientadora  
Universidade Federal do Espírito Santo – UFES

Prof(a). Dr(a). Gláucia Rodrigues de Abreu – Membro interno  
Universidade Federal do Espírito Santo – UFES

Prof(a). Dr(a). Patrick Wander Endlich – Membro externo  
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM

## Dedicatória

Primeiro a Deus que sempre se faz presente em minha vida, e segundo as duas mulheres da minha vida: minha mãe e a minha avó, e terceiro a um casal de anjos, meu tio Felipe e sua esposa Marcela, que me adotaram e me mostraram o caminho do ensino e da cultura.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, à Deus que é meu porto seguro. Que me guiou até aqui e, por muitas vezes, me deu paciência, sabedoria e, principalmente, forças para superar as dificuldades do caminho. Agradeço também a minha noiva, que intercedeu e me ajudou no período mais crítico e difícil dessa jornada que se finda, Rosilma, te amo meu amor.

Agradeço a minha avó Euzira e a minha mãe que são uma parte importante da minha vida, que me auxiliaram a alcançar esse objetivo. Agradeço, em especial, meu tio e sua esposa, Felipe e Marcela Mariani, que são os dois anjos responsáveis pela minha educação e pela introdução a leitura, cultura e intelectualidade. Foram parte fundamental no meu desenvolvimento acadêmico e cultural. Obrigado por tudo!

Aos meus queridos amigos que me motivaram e me ajudaram quando precisei. E também por acreditarem nos meus objetivos a curto, médio e longo prazo, e no meu potencial. Agradeço também ao apoio em momentos que eu precisei, obrigado!

Aos meus colegas e companheiros de laboratório e dia a dia de UFES, pela amizade e apoio nos momentos mais difíceis. Obrigado pelos conselhos e todo auxílio que tiveram comigo! Vocês são os melhores presentes que a UFES me deu! São pessoas excepcionais! Esta foi apenas mais uma das tantas jornadas que ainda temos juntos. A vocês expresso minha eterna gratidão.

Aos que me ensinaram e orientaram nessa jornada Dr. Vinicius Mengal pela paciência e ensinamentos e conselhos. Responsável por grande parte do meu aprendizado acadêmico durante a execução da minha participação nesse, e no meu curso de mestrado.

A minha orientadora, Professora Dra. Sônia Alves Gouvêa, por ter me aceito como aluno de mestrado, e por ter me dado a oportunidade de fazer parte desse grupo. Por ter me concedido este projeto e por me motivar através da responsabilidade, em concluir o meu mestrado. Orientadora, sou muito grato pelos conselhos, pela inspiração. Aos membros do Laboratório por todo o apoio.

“Adoro-te devotamente divindade escondida, que verdadeiramente se oculta sob estas aparências. A vós meu coração se submete totalmente, pois te contemplando tudo desfalece.”

(Santo Tomás de Aquino)

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	8
LISTA DE ABREVIATURAS .....	10
RESUMO .....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
OBJETIVOS.....	32
Objetivo Geral.....	32
Objetivos Específicos.....	32
METODOLOGIA .....	33
RESULTADOS .....	37
DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÃO.....	52
REFERENCIAS.....	53



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Avaliação do peso corporal (g) inicial de ratos com hipertensão renovascular 2R1C e SHAM.....	35
<b>Figura 2.</b> Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + BEN (Associação) sobre peso corporal (g) final após 21 dias de tratamento de ratos com hipertensão renovascular 2R1C.....	36
<b>Figura 3.</b> Valores iniciais de Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos com hipertensão renovascular 2R1C e Sham. ....	38
<b>Figura 4.</b> Efeitos da indução da hipertensão 2R1C sobre a Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos no sétimo dia antes iniciar o tratamento. ....	39
<b>Figura 5.</b> Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + BEN sobre a Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos ao final do tratamento. Valores expressos em média $\pm$ EPM.....	39
<b>Figura 6.</b> Valores iniciais da frequência cardíaca (BPM), ratos que não passaram pelo procedimento de 2R1C. Valores expressos em média $\pm$ EPM .....	39
<b>Figura 7.</b> Efeitos da indução da hipertensão 2R1C sobre a Frequência Cardíaca (BPM) em ratos no sétimo dia antes iniciar o tratamento. Valores expressos em média $\pm$ EPM; (N= 8 por grupo). *P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C (One-way ANOVA/Tukey).....	40
<b>Figura 8.</b> Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + Benazepril (Associação), sobre a F frequência cardíaca (BPM) em ratos ao final do tratamento. Valores expressos em média $\pm$ EPM; (N= 8 por grupo). *P <0,05 em relação ao grupo SHAM e #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C #P <0,05 em relação aos grupos BEN, L-ARG e Associação. (One-way ANOVA/Tukey) .....	40

**Figura 9** Imagens histológicas representativas de ventrículo esquerdo coradas utilizando hematoxilina e eosina (Sham:A; 2R1C:B; Benazepril:C; L-Arginina:D; Associação: E) e picosirius red (PR) (SHAM:C; 2K1C:F; ALSK:I; L-ARG:L; Associação: O) de ratos controle e tratados com Benazepril e L-arginina. Quantificação do número de núcleos. Valores expressos em média ± EPM; (n = 5 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C e /P <0,05 em relação ao grupo BEN e em relação ao grupo L-arg. (One-way ANOVA/Tukey).....41

**Figura 10.** Imagens de microscopia apresentam a fluorescência emitida por dihidroetideo no ventrículo esquerdo dos ratos SHAM (A), 2R1C (B), BEN (C), L-Arginina (D) e Associação (E). Imagens histológicas representativas de seções arteriais microscópicas coradas utilizando picosirius red (PR) ((SHAM:A; 2R1C:B; BEN:C; L-ARG:D; Associação: E) obtida de ventrículo esquerdo de ratos controle e tratados. Quantificação do conteúdo de colágeno (Q). Valores expressos em média ± EPM; (n = 5 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C e /P <0,05 em relação ao grupo BEN e \$ em relação ao grupo L-arg. (One-way ANOVA/Tukey). ARG (D) e BEN+L-ARG (E). Gráfico com valores da fluorescência emitida por dihidroetideo no ventrículo esquerdo. Valores expressos em média ± EPM.....42

**Figura 11.** Imagens de microscopia apresentam a fluorescência emitida por Dihidroetideo no ventrículo esquerdo dos ratos SHAM (A), 2R1C (B), BEN (C), L-ARG (D) e Associação (E). Gráfico com valores da fluorescência emitida por Dihidroetideo no ventrículo esquerdo. Valores expressos em média ± EPM; (n = 5 por grupo). \* P <0.05 em relação ao grupo SHAM; # P < 0.05 em relação ao grupo 2R1C. ....44

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**2R1C:** Dois rins, um clip

**ANG II:** Angiotensina II

**ECA:** Enzima de conversão da angiotensina

**EROs:** Espécies reativas de oxigênio no organismo

**HA:** Hipertensão arterial

**HR:** Hipertensão renovascular

**IECA:** Inibidores da enzima de conversão da angiotensina

**BEN:** Benazepril

**L-ARG:** L-arginina

**NO:** Óxido nítrico

**PA:** Pressão arterial

**PAS:** Pressão sistólica pressão arterial

**RSNA:** Atividade nervosa simpática renal

**RBF:** Controle do fluxo sanguíneo renal

**SRAA:** Sistema renina-angiotensina-Aldosterona

**TFG:** Taxa de filtração glomerular

**VE:** Ventrículo esquerdo

**HVE:** Hipertrofia ventricular

**VSMC:** Migração de células do músculo liso vascular

**DHE:** Fluorescência produzida pela oxidação do Dihidroetídeo

## RESUMO

A hipertensão é o resultado de distúrbios na pressão arterial podendo ser causada por vários fatores como sedentarismos, má alimentação e até horas insuficientes de sono. Está também relacionada a doença renal influenciada por fatores fisiológicos, que estão relacionados ao processo renina-angiotensina-aldosterona responsável por regular o volume hídrico do sangue através dos níveis sódio e também desordem no sistema nervoso simpático. O modelo experimental dois rins, um clipe (2R1C) promove uma hipertensão renovascular, além de hipertrofia ventricular esquerda, disfunção endotelial, e aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio no organismo (EROs), e cardiopatia isquêmica. Tratamentos com inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) e suplementação com precursores que potencializam a síntese de NO podem ser uma das alternativas no controle da hipertensão renovascular. A hipertensão renovascular foi induzida em ratos Wistar com um clipe de prata implantado na artéria renal esquerda e os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: SHAM, 2-rins, 1-clip (2R1C), 2R1C tratado com benazepril (BEN), 2R1C tratado com L-arginina (L-ARG) e 2R1C tratado com associação de Benazepril+L-arginina (Associação), os tratamentos foram iniciados 7 dias após clipagem e duraram por 3 semanas consecutivas. A pressão arterial foi medida no início, sete dias após a clipagem e ao final após o tratamento (28<sup>o</sup>). Após 21 dias de tratamento apenas o grupo Associação foi eficaz na normalização da pressão arterial sistólica quando comparado ao grupo 2R1C e SHAM. Nossos achados mostram também que os tratamentos foram efetivos em melhorar a pressão arterial de ratos com hipertensão renovascular. O efeito antioxidante do benazepril e sua capacidade em reduzir o estresse oxidativo e a oferta de NO pela L-arginina podem ser um importante mecanismo para a melhora no remodelamento vascular encontrado em nossos estudos. Portanto, nosso trabalho demonstra que o tratamento com BEN associado a L-arginina foi efetivo em reduzir a PA e prevenir a hipertrofia, além disso, apontamos que os mecanismos

envolvidos nesses efeitos parecem estar relacionados com uma redução do estresse oxidativo no aumento da produção/biodisponibilidade de NO.

**Palavras chave:** L-Arginina, Benazepril, 2R1C, Hipertensão, ECA.

## ABSTRACT

Hypertension is the result of blood pressure disorders and can be caused by several factors such as sedentary lifestyle, poor diet and even insufficient hours of sleep. It is also related to kidney disease influenced by physiological factors, which are related to the renin-angiotensin-aldosterone process responsible for regulating blood water volume through sodium levels and also disorder in the sympathetic nervous system. The two-kidney, one-clip experimental model (2K1C) promotes renovascular hypertension, in addition to left ventricular hypertrophy, endothelial dysfunction, and increased levels of reactive oxygen species in the body (ROS), and ischemic heart disease. Treatments with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and supplementation with precursors that potentiate NO synthesis may be one of the alternatives in the control of renovascular hypertension. Renovascular hypertension was induced in Wistar rats with a silver clip implanted in the left renal artery and the animals were divided into the following experimental groups: SHAM, 2-kidneys, 1-clip (2K1C), 2K1C treated with benazepril (BEN), 2K1C treated with L-arginine (L-ARG) and 2K1C treated with an association of Benazepril+L-arginine (Association), treatments started 7 days after clipping and lasted for 3 consecutive weeks. Blood pressure was measured at the beginning, seven days after clipping and at the end of the treatment (28<sup>o</sup>). After 21 days of treatment, only the BEN+L-ARG group was effective in normalizing systolic blood pressure when compared to the 2K1C and SHAM groups. Our findings also show that the treatments were effective in improving blood pressure in rats with renovascular hypertension. The antioxidant effect of benazepril and its ability to reduce oxidative stress and the supply of NO by L-arginine may be an important mechanism for the improvement in vascular remodeling found in our studies. Therefore, our work demonstrates that treatment with BEN associated with L-arginine was effective in reducing BP and preventing hypertrophy, in addition, we point out that the mechanisms involved in these effects seem to be related to a reduction in oxidative stress in the increase of NO bioavailability.

**Keywords:** L-Arginine, Benazepril, 2R1C, Hypertension, ACE.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 HIPERTENSÃO

A hipertensão é um estado de pressão arterial sistólica e/ou diastólica elevada, podendo ocorrer por ação de vários fatores, como maus hábitos alimentares, sedentarismo, tabagismo e privação de horas de sono. O quadro ideal das pressões sistólica e diastólica estão entre <140/90 mm Hg e <130/80 mm Hg para pessoas com diabetes mellitus, doença renal crônica ou doença cardíaca coronária (CHD) (CHRYSANT, 2012). A prevalência mundial de hipertensão desde muitos anos atrás já era estimada em 1,13 bilhão de pessoas em todo mundo, e as mortes atribuíveis a esse fator de risco era estimada em 9,4 milhões por ano em todo o mundo (TSCHUDI et al., 1994a). Atualmente a Organização Mundial da saúde estima que cerca de 600 milhões de pessoas tenham HA, com crescimento global de 60% dos casos até 2025, sendo que sua prevalência é heterogênea em âmbito mundial Saúde (KIM et al., 2020). No Brasil aproximadamente 32,5% das complicações cardiovasculares são de pessoas com hipertensão arterial (HA). O quadro de HA é responsável por 50% das mortes envolvendo problemas cardíacos, afetando em sua maioria homens (BRASILEIRA, 2014). As consequências do quadro de hipertensão, é a promoção da hipertrofia ventricular esquerda, disfunção endotelial e aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio no organismo (EROs), e cardiopatia isquêmica (BRASILEIRA, 2014; JIANG et al., 2017; RUGGENENTI et al., 2019; VALKO et al., 2007).

Há duas formas diferentes de hipertensão arterial, que são as primárias e as secundárias. A primária é a forma mais comum na população, promovendo 95% dos casos, e não apresenta causa definida. Porém está relacionada à interação de fatores genéticos e ambientais heterogêneos, como tabagismo, sedentarismo, estresse e consumo excessivo de sal e álcool. Por sua vez, a hipertensão



secundária tem prevalência 5% e está associada a algumas condições clínicas, como: hipertireoidismo, hipotireoidismo, doença renal crônica, síndrome da apneia e hipopneia obstrutiva do sono (MALACHIAS et al., 2016).

Em uma metanálise de um milhão de hipertensos, foi demonstrado que havia uma relação linear entre o aumento da pressão arterial (PA) sistólica e diastólica e a incidência de complicações cardiovasculares e derrame vascular cerebral, em pacientes de todas as idades. Essa análise também mostrou que, para cada aumento de 20 mmHg na pressão arterial sistólica e cada 10 mmHg na pressão arterial diastólica, o risco de doenças cardiovasculares e derrames duplicam (CHRYSANT, 2012). Estudos em modelos animais hipertensos mostram um aumento na atividade do nervo simpático renal basal (RSNA) e barorreflexo, em quadros de hipertensão renovascular (GOUVEA et al., 2014; MENGAL et al., 2016; TIRADENTES et al., 2015).

A regulação da PA é complexa e é afetada por vários mecanismos, como a atividade do sistema nervoso simpático, o sistema renina angiotensina-aldosterona, e a via do óxido nítrico (NO). É possível medir a pressão sanguínea através do cálculo do volume sanguíneo e à capacitância da circulação, que são resultantes da interação entre o DC (débito cardíaco = frequência cardíaca x volume sistólico), a resistência vascular periférica (RVP) e a capacitância venosa. Ao considerar a relação Pressão Arterial = DC x RVP, conclui-se que fatores capazes de alterar o DC e/ou a RVP, modificam conseqüentemente a PA. No entanto, alterações na resistência vascular são as principais responsáveis por modificações na PA (BOHR; WEBB, 1984; LUND-JOHANSEN, 1983).

A hipertensão não controlada é um importante fator de risco para morbimortalidade cardiovascular, e de acidente vascular cerebral, sendo assim, mantida dentro de valores normais graças a processos fisiológicos naturais. (GUEUTIN; DERAY;

ISNARD-BAGNIS, 2012; GUYTON, 1991; MARTINEZ-ARROYO et al., 2020; PASHLEY, 1999).

## **1.2 HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**

A progressão da doença CV ocorre em paralelo com a deterioração renal, um conceito conhecido como contínuo cardiorrenal (BARRIOS; ESCOBAR, 2010). Lesões de característica crônica ou aguda são fatores de risco crucial para complicações sérias, e promovem doenças mais graves no sistema cardiovascular. O coração e os rins estão sempre correlacionados, e essa relação entre os dois, em casos de complicações fisiológicas promovem a síndrome cardiorrenal. Rins enfermos potencializam a atividade do sistema nervoso simpático, e oferece um ambiente propício para o surgimento de doenças cardiovasculares e grande acúmulo de toxinas de origem urêmica, além de promover um desequilíbrio do Sistema-Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), promovem o quadro de hipertensão, distúrbios do fosfato de cálcio e inflamação sistêmica (CRAVEDI; LEVENTHAL; PICCOLI, 2021; RUGGENENTI et al., 2019).

Tem sido demonstrado que a hipertensão renovascular é um fator de risco elevado, pois aumenta de forma significativa as chances de ocorrer doenças cardiovasculares, ou doenças relacionadas como: acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio. (BODDI, 2017; CRAVEDI; LEVENTHAL; PICCOLI, 2021; HART; BAKRIS, 2010; KIHM, 2016; KIM et al., 2020; MENNUNI et al., 2014; SUNEJA; SANDERS, 2017).

A hipertensão renovascular é causada pelo aumento da geração de Angiotensina II (ANG II), devido ao aumento da liberação de Renina, que promove uma potente vasoconstrição e sensibilidade barorreflexa (MENGAL et al., 2016; SANTUZZI et al., 2015).

Foi demonstrado que, a ativação do SRAA está envolvida na patogênese da doença renal crônica e suas complicações cardiovasculares. No entanto, o bloqueio do SRAA pelos inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA), e conseqüentemente da ANG II, alivia a hipertensão e funciona como um eficiente tratamento. No sistema nervoso central por influência da ANG II, o tônus vasomotor simpático é aumentado e conseqüentemente aumenta a pressão arterial. Este efeito explica parcialmente o envolvimento da ANG II na patogênese de muitos modelos experimentais de hipertensão, incluindo hipertensão renovascular (GOUVEA et al., 2014).

O modelo experimental de hipertensão dois rins um clipe (2R1C) de Goldblatt, simula um quadro de nefropatia, que é a estenose da artéria renal, reduzindo a reperfusão do rim, promovendo um aumento na atividade da Renina plasmática e ANG II e aumentando da PAS. A técnica ocasiona alterações neuro-humorais e hemodinâmicas bem significativas. Na fase crônica da hipertensão 2R1C, a elevação da pressão arterial se deve principalmente ao aumento da resistência vascular periférica, com redução adicional do tônus venoso (GOLDBLATT et al., 1934; GOUVEA et al., 2004; GOUVÊA et al., 2003; LIGGETT, 2014; MENGAL et al., 2016).

Apesar da associação redução da capacidade vascular e do débito cardíaco, a taxa de filtração glomerular em rim clipado é reduzida e há um aumento inadequado da taxa de filtração glomerular do rim não clipado. Assim, ele tem sido sugerido que alterações na função renal, o balanço de sódio pode contribuir para a hipertensão obtida com este modelo (GOUVÊA et al., 2003).

### **1.3 SISTEMA-RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA (SRAA)**

O sistema renina-angiotensina-aldosterona SRAA contribui com o controle da pressão arterial pois está diretamente relacionado com a controle homeostático.

Além de controlar os níveis de sais e a água do organismo, influenciando no volume extracelular, além de influenciar a perfusão tecidual. Durante a insuficiência cardíaca, o débito cardíaco e a pressão arterial média diminuem, levando à diminuição da perfusão renal e, por sua vez, à ativação do SRAA. Por outro lado, durante a disfunção renal, ocorre uma má adaptação neuro-hormonal e do sistema nervoso simpático, resultando em ativação inadequada do SRAA (STOMPÓR; NAPORA; OLSZEWSKI, 2011). A ANG II desempenha um papel atuante na patogênese da aterosclerose e lesão de órgãos alvos, pois não só desempenha um papel central na fisiopatologia da hipertensão por promover a vasoconstrição e retenção de líquidos, mas também tem toxicidade tecidual direta nos vasos, coração, cérebro e rins (ANN et al., 2020).

A ativação fisiológica desse sistema por perda de líquido ou sal, ou diminuição da PA, causa a liberação da enzima renina do aparelho justa glomerular. A renina atua para clivar a glicoproteína angiotensinogênio, produzindo um decapeptídeo de menor atividade, a Angiotensina I (ANG I), que por sua vez é clivado pela ECA para formar o octapeptídeo ativo, o ANG II, que promove potente vasoconstrição, aumentando a resistência vascular sistêmica e estimulando a liberação de aldosterona adrenal (BARRIOS; ESCOBAR, 2010).

O SRAA está envolvido na patogênese da doença renal crônica (DRC) e complicações cardiovasculares, por advento da ANG II que é considerada um hormônio multifuncional que influencia muitos processos celulares, que envolvem a regulação da função vascular, e também promover crescimento celular, apoptose, migração celular, inflamação e fibrose, além de desempenhar um papel fundamental na regulação da pressão sanguínea e da homeostase hídrica. A ANG II também está relacionada ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), pelas células do músculo liso vascular (VSCM) (AZUSHIMA et al., 2020; DUDOIGNON; DÉPRET; LEGRAND, 2019; GATHIRAM; MOODLEY, 2020; HIAN;

LEE; THOMAS, 2016; KHALAF et al., 2019; LI et al., 2020b; PALMER, 2020; ZARBOCK; CHAWLA; BELLOMO, 2021; ZHENG et al., 2020).

A ANG II exerce papel essencial, atuando na síntese e degradação do colágeno por meio da ativação dos receptores AT1 e AT2, porém os efeitos do subtipo AT1 predominam sobre o AT2. Uma vez ativado nas células cardíacas, o receptor AT1 causa um aumento na deposição de colágeno, que tem a sua síntese pelos fibroblastos, promovendo a hipertrofia cardíaca por deposição nos cardiomiócitos. (ALMEIDA et al., 2014; DEBORTOLI et al., 2017; GIESTAS; PALMA; RAMOS, 2010; HOLAPPA; VAPAATALO; VAAJANEN, 2020; IRAVANIAN; DUDLEY, 2008).

É de conhecimento que ANG II agindo no receptor AT1, aumenta a atividade nervosa simpática. A redução do ganho do barorreflexo é um importante fator da hipertensão, que está intimamente relacionada à hiperatividade simpática, e ativação do sistema circulante e do sistema renina angiotensina local (MENGAL et al., 2016). A atividade nervosa simpática renal (RSNA) tem um papel importante no controle do fluxo sanguíneo renal (RBF), e da taxa de filtração glomerular (TFG), podendo assim influenciar no volume extracelular e na pressão arterial (BESSAGUET et al., 2016; DURANTE et al., 2012; GOUVEA et al., 2014; SHUKLA; BANERJEE, 2021).

Além da vasoconstrição e retenção de sódio levando ao aumento da pré e pós carga, uma das ações mais deletérias do SRAA é a ativação da NADPH-oxidase pela ANG II, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio. Isso ocorre devido a influência da ANG II nas células cardíacas, especificamente pela interação com o receptor AT1 causando um aumento na deposição de colágeno por advento da ANG II que tem a sua síntese pelos fibroblastos que promove a hipertrofia cardíaca por deposição nos cardiomiócitos (STOMPÓR; NAPORA; OLSZEWSKI, 2011).

## 1.4 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROs)

A ANG II pode induzir estresse oxidativo na vasculatura através da geração de radicais livres de oxigênio. O ânion superóxido é gerado pela NADH/NADPH oxidase ligada à membrana em vasos de ratos hipertensos. Portanto, a sinalização oxidativa é uma característica compartilhada pelos efeitos da ANG II no metabolismo celular e na expressão gênica relacionada (YAN et al., 2013).

A síntese de EROs é extremamente comum, sendo sintetizados pelo metabolismo celular como resíduos metabólicos das células. Os níveis de EROs pode aumentar e assim ultrapassar as quantias toleráveis, podendo influenciar em alguns processos fisiológicos. As EROs são divididas em radicalares, como por exemplo o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxil (OH) que é o mais reativo, radicais peroxila (ROO), e também por espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), ácido hipocloroso (HOCl) e o ozônio ( $O_3$ ) (BIRBEN et al., [s.d.]; KATO et al., 2017).

Há também as espécies reativas de nitrogênio (ERN), radicais que possui nitrogênio em sua formula molecular. São esses o dióxido de nitrogênio ( $NO_2$ ), o óxido nítrico (NO) e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ). Diferente dos radicais, que são extremamente reativos e de caráter instável, os não radicais são menos reativos e de caráter mais estável, e possuem o tempo de meia-vida maior (APEL; HIRT, 2004; PARAVICINI; TOUYZ, 2008). O estresse oxidativo é devido a uma desarmonia entre a síntese elevada de espécies reativas de oxigênio EROs e uma falha do sistema antioxidante (KUNSCH; MEDFORD, 1999; STEINBERG, 2013; TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011).

Quando há produção excessiva de EROs, ocorre o estresse oxidativo, que é extremamente danoso as cadeias moleculares. Algumas lesões celulares podem ocorrer em diferentes biomoléculas; estes podem ser identificados e incluem

peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas, podendo promover quebras na cadeia de DNA (PIZZINO et al., 2017; SENONER; DICHTL, 2019).

O dano ao DNA induzido por EROs envolve quebras em sua dupla fita, promovendo modificações na purina, pirimidina ou na desoxirribose. O dano ao DNA pode resultar em parada ou indução da transcrição, indução de vias de transdução de sinal, erros de replicação e instabilidade genômica, sendo todos associados à carcinogênese. Os inibidores da enzima de conversão da angiotensina estimulam a produção de NO, aumentando a formação de bradicinina e reduzindo a formação de EROs (KHALAF et al., 2019; ORDOG et al., 2021).

### **1.5 HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA**

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é o crescimento da massa do ventrículo esquerdo (VE) causado pelo aumento do tamanho dos cardiomiócitos. O processo é composto por uma série de eventos transcricionais, de sinalização, estruturais, eletrofisiológicos e funcionais que afetam todos os tipos de células cardíacas (LAZZERONI; RIMOLDI; CAMICI, 2016).

Yildiz et al 2020 em seu estudo explica que esse processo é uma resposta à hipertensão, que envolve uma interação complexa de cardiomiócitos e como células endoteliais, fibroblastos, e também o sistema imunológico. O estiramento mecânico ativo envolve cascatas de sinalização intracelular, que promove a expressão de genes específicos relacionados a síntese de proteínas (por exemplo, actina, miosina), que se organizam formando o sarcômero.

A HVE fisiológica é geralmente benigna e regride com a redução/cessação da atividade física. A HVE patológica é um fenômeno compensatório que eventualmente pode se tornar mal adaptativo e evoluir para disfunção progressiva do VE e insuficiência cardíaca (IC)(LAZZERONI; RIMOLDI; CAMICI, 2016).

O crescimento das células conhecido como hipertrofia dos cardiomiócitos pode levar à insuficiência cardíaca congestiva e outras formas de doenças cardiovasculares. As células do músculo cardíaco aumentam quando a via de sinalização intracelular regulada por uma molécula mensageira chamada proteínas de ancoragem A-cinase específicas do músculo (mAKAP), é estimulada (DAHLÖF, 2001; KHALAF et al., 2019; LAZZERONI; RIMOLDI; CAMICI, 2016; LOVIC et al., 2017; YILDIZ et al., 2020).

A ANG II medeia efeitos hemodinâmicos, bem como inflamação e fibrose no rim, se estiver em porcentagens elevadas, além de influenciar os tecidos cardiovasculares. A variabilidade da PA a curto prazo aumenta significativamente em pacientes com doença arterial coronariana, e está fortemente associada ao grau de hipertrofia ventricular esquerda (HVE) (HERNÁN GÓMEZ LLAMBÍ et al., 2017; LI et al., 2020a; OHSAWA et al., 2013; REYES et al., 2019; RUILOPE; SCHMIEDER, 2008).

Pequenas alterações do diâmetro luminal podem influenciar grandemente na resistência vascular periférica e, conseqüentemente, levar a uma modulação significativa da pressão arterial. Dessa forma a mudança na geometria dos vasos conhecidas como remodelamento vascular, podem ocorrer devido a alterações na função (reatividade vascular), na distensibilidade (rigidez vascular) ou na estrutura vascular (BRIONES et al., 2006; INTENGAN; SCHIFFRIN, 2000; MARTINEZ-LEMUS; HILL; MEININGER, 2009; MULVANY, 2008).

Evidências crescentes sugerem que a ativação imune e os mediadores inflamatórios podem desempenhar um papel no desenvolvimento e progressão da hipertrofia do VE. Por exemplo, concentrações plasmáticas elevadas de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), têm sido frequentemente observadas em pacientes com insuficiência cardíaca crônica (ICC). A matriz de colágeno miocárdico, composta principalmente de colágeno tipo I/III, é considerada um importante



determinante da integridade estrutural miocárdica e da função cardíaca. A deposição excessiva de colágeno é essencial para o desenvolvimento da fibrose cardíaca (YAN et al., 2013).

O colágeno é uma proteína muito rígida cuja função é limitar a distensão produzida pela pressão, sendo que no sistema cardiovascular predominam os colágenos do tipo I e III (BRIONES; ARRIBAS; SALAICES, 2010). O aumento da deposição de colágeno pode ser responsável por alterações mecânicas e pelo remodelamento cardiovascular observado em um quadro de hipertensão. Já está bem estabelecido na literatura que há um aumento da produção de colágeno em artérias de resistência de modelos experimentais de hipertensão promovida pelo aumento da ANG II (ARRIBAS; HINEK; GONZÁLEZ, 2006; BRIONES et al., 2006; BRIONES; TOUYZ, 2009).

#### **1.6 INIBIDOR DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (IECA)**

Os IECAs foram introduzidos no mercado em 1981 para o tratamento da hipertensão. Desde então, eles demonstraram excelentes efeitos na redução da pressão arterial (PA) e alguns benefícios clínicos "adicionados" em termos de redução da morbidade e mortalidade em uma variedade de doenças CV, além de terem efeitos significativos e condições associadas, como a insuficiência renal crônica (STOMPÓR; NAPORA; OLSZEWSKI, 2011).

Essa categoria de medicamento atua na etapa da cascata do SRAA, inibindo a conversão catalisada da renina por angiotensinogênio em angiotensina I, sendo esse processo de inibição da renina, um meio extremamente eficiente de obter o controle dos efeitos do excesso da ANG II no organismo (BHANDARI et al., 2016; OHSAWA et al., 2013; SHUKLA; BANERJEE, 2021).

O SRAA está envolvido na promoção de danos nos órgãos relacionados à hipertensão, à doença-renal-coronariana. Além disso, o uso de IECA reduzem os

riscos cardiovasculares e renais, e também reduz a proteinúria/albuminúria (KHALAF et al., 2019; KOSTIS et al., 2017). Yan et al 2013 externa em seu estudo que os inibidores da ECA administrados cronicamente antes do infarto agudo do miocárdio (IAM) podem limitar o tamanho do infarto do miocárdio, melhorar a função cardíaca e prevenir a hipertrofia cardíaca.

O benefício de um IECA além dos efeitos hemodinâmicos observados na literatura, no tratamento da insuficiência cardíaca, promove redução da pressão intraglomerular, vasodilatação das arteríolas pós-glomerulares, melhoras na membrana glomerular, além de níveis renais reduzidos de citocinas pró fibróticas como fator de crescimento transformador- $\beta$ 1 e fator de crescimento do tecido conjuntivo. É defendido na literatura que a proteinúria tem forte associação com a fibrose intersticial e hipertrofia glomerular (MONTINARO; CICARDI, 2020; SENT et al., 2015).

### **1.7 ÓXIDO NÍTRICO (NO)**

O NO, uma molécula que desempenha um papel muito importante nas condições fisiológicas e fisiopatológicas, é um radical livre que é sintetizado por três NOS a partir da L-arginina. NOS são membros de uma família de redutases semelhantes ao citocromo P450 ligadas a um dinucleotídeo de nicotinamida adenina enzima fosfato (reduzida) (NAD[P]H) oxidase. Duas isoformas (NOS endotelial e NOS neuronal, eNOS e nNOS) são expressas constitutivamente e são agudamente reguladas por cálcio/calmodulina e fosforilação, enquanto a terceira (iNOS) é induzida durante a inflamação e produz níveis mais elevados de NO por um período mais longo, que é produzida principalmente pela ação de citocinas inflamatórias de endotoxina, como interleucina 1 ou fator de necrose tumoral  $\gamma$  em macrófagos e outros tipos de células (GILES, 2006a; WANG et al., 2007).

A principal via da síntese do NO é pela NO sintase endotelial (eNOS). A eNOS é ativada através de várias vias, incluindo proteína quinase B (PKB; Akt), proteína quinase A (PKA) e proteínas de choque térmico, e também regula a função endotelial e o tônus vascular através da produção contínua de NO. O NO mediado por eNOS é relatado para atenuar a ação vasoconstritora da ANG II, danos às células endoteliais (EC) e estresse oxidativo (RYODEN et al., 2020; SEGAWA et al., 2020).

O fluxo sanguíneo pulsátil e o estresse de cisalhamento são os estímulos fisiológicos primários da produção de NO pelo endotélio. Essas forças abrem os canais de cálcio nas células endoteliais, promovendo assim a ativação dependente de cálcio da eNOS, que, por sua vez, induz a liberação de NO. Uma vez sintetizado, o NO se difunde no músculo liso vascular subjacente, onde ativa a guanilato ciclase solúvel, causando um aumento no monofosfato de guanosina 3',5'-cíclico e relaxamento do músculo liso (GILES, 2006b; LI et al., 2019).

O NO é um radical livre gasoso com uma meia-vida curta, mas extremamente difusível pela membrana devido a sua característica lipossolúvel. É o principal mediador do relaxamento vascular sintetizado através da ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), em uma reação que implica a conversão do aminoácido L-Arginina para L-Citrulina. Em condições fisiológicas, o relaxamento mediado pelo NO pode ser induzido por diversos estímulos (físicos e/ou químicos) tais como: estiramento vascular, alterações na velocidade de fluxo sanguíneo (*shear stress*), agregação plaquetária, acetilcolina adenosina difosfato (ADP), bradicinina, ANG II, serotonina (5-HT) (LEE; CHOI, 2013; MARÍN; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, 1997).

Além disso, é o mais potente agente coagulador. Entretanto, existem outros fatores mediadores da vasodilatação como a bradicinina, a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e o EDHF (fator hiperpolarizante derivado do endotélio). Dentre as substâncias vasoconstritoras, podemos citar a ANG II, a endotelina-1 e os produtos do

metabolismo do ácido araquidônico como o tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) (CARVALHO et al., 2001; FERREIRO et al., 2001).

O fato do NO possuir meia-vida curta se deve à sua rápida oxidação a nitrito e nitrato. Um dos mecanismos mais aceitos para explicar a disfunção endotelial associada com a hipertensão é a diminuição na disponibilidade de NO. Desse modo, menor disponibilidade de NO está associada à diminuição na síntese, no aumento da degradação ou na redução da ativação da guanilato ciclase. A menor síntese de NO pode resultar da deficiência de substratos e co-fatores para a NOS, diminuída expressão ou ativação da NOS tais como fosforilação da enzima ou interação com proteínas (hsp90 ou calmodulina), ou ainda um aumento nos inibidores endógenos da enzima (ADMA) (ALMEIDA et al., 2014; DE ALMEIDA et al., 2014; STEFANI et al., 2018).

A maior degradação de NO ocorre pela reação do NO com moléculas tais como hemoglobina e albumina, e principalmente por reagir com radicais livres derivados do oxigênio, principalmente ânion superóxido (resultando em peroxinitrito - ONOO<sup>-</sup>), resultando em inibição da sua atividade biológica e consequente prejuízo na resposta vasodilatadora (SILBERMAN et al., 2010; TANG; VANHOUTTE, 2010). Há evidências de que hipertensão-renovascular está associada a um aumento no estresse oxidativo, o que pode reduzir a biodisponibilidade do NO e prejudicar a vasodilatação dependente do endotélio (GOUVÊA et al., 2003).

Outra grande importância do óxido nítrico NO, além de sua atuação no sistema cardiovascular, é ser o principal regulador nos sistemas nervoso e imunológico. Além da efetiva influência na prevenção da hipertrofia cardíaca proveniente de EROs, e em quadros de dano do tecido cardiovascular e morbidade, promovendo assim a apoptose dos cardiomiócitos, foram relatados que alterações na via Arg-NO, promove insuficiência cardíaca crônica (PELUFFO, 2007).

## **1.8 BEZANEPRIL**

Uma variedade de medicamentos tem sido largamente recomendados para o tratamento de comorbidades cardiovasculares sendo esses: IECAs, Aspirina, Betabloqueadores, Clopidogrel, Bloqueadores dos canais de cálcio, Diuréticos, e mais recentemente o Pimobendan (DEQUATTRO, 1991; KHALAF et al., 2019; STOMPÓR; NAPORA; OLSZEWSKI, 2011).

Os IECAs demonstraram benefícios clínicos em termos de redução da morbidade e mortalidade em uma variedade de doenças cardiovasculares (CV) e condições associadas, incluindo insuficiência cardíaca congestiva (ICC), infarto do miocárdio, diabetes mellitus e insuficiência renal crônica. Esses benefícios generalizados são apoiados por um grande corpo de evidências clínicas, que também destacaram uma relação entre morbidade e mortalidade CV e pressão arterial (PA) sistólica e diastólica (BARRIOS; ESCOBAR, 2010).

O Benazepril é administrado como uma pró-droga, constituída por um núcleo enzepina com uma cadeia lateral fenilpropila, um grupo ácido carboxílico e um éster etílico. Após a administração e absorção, o éster etílico é clivado, criando um segundo grupo ácido carboxílico e convertendo o benazepril em seu metabólito ativo, o diácido Benazeprilato, um forte inibidor de ECAs (BARRIOS; ESCOBAR, 2010).

Os IECAs suprimem os níveis de ANG II – inibem sua conversão a partir da ANG I – que atenua a toxicidade tecidual direta da ANG II. Os IECAs também regulam os níveis de bradicinina que podem contribuir com a função terapêutica, pois potencializa o equilíbrio fibrinolítico, aumenta o pré-condicionamento isquêmico e melhora a função endotelial (ANN et al., 2020).

O Benazepril é um tipo de IECA recomendado como medicamento de primeira linha para o tratamento da hipertensão, entretanto não se tem estudos na literatura quanto a efetividade dele em tratamento em conjunto com outro medicamento que possui uma via diferente de atuação, como forma de tratamento em associação. O principal

papel dos IECAs é atuar no SRAA, agindo na inibição de geração de ANG II, que consequentemente reduz a degradação da bradicinina, reduz a vasoconstrição, e estimula a vasodilatação (JIANG et al., 2016; KUSCHNIR et al., 1996; TSCHUDI et al., 1994b).

A literatura mostra o potencial inibidor de danos teciduais através de tratamentos a base de IECAs, onde esses limitam a progressão de danos no tecido renal de forma eficaz em pacientes com diabetes tipo 1 e nefropatia (BARRIOS; ESCOBAR, 2010; MACNAB; MALLOWS, 1991; RUGGENENTI et al., 2019, 2021).

O potencial de inibição da ECA promovido pelo Benazepril promove uma ampliação do calibre de vaso condutores, sendo a vasodilatação induzida por esse medicamento capaz de superar a vasodilatação causada pela amlodipina, promovendo assim uma melhor diminuição do edema idiopático. (KUSCHNIR et al., 1996; LI et al., 2019).

Este IECA impede o aumento nos níveis de proteinúria, sendo efetivo tratamento da doença renal coronariana, devido ao efeito de redução da pressão arterial que acaba sendo um procedimento anti-proteinúrico. Estudos pioneiros descobriram que a perda progressiva da função renal é retardada pela terapia com fármacos capazes de controlar a PA em pacientes com diabetes tipo 1 de longa duração. Além de ter efeitos contrários a hipertrofia do ventrículo esquerdo e da rigidez arterial, promove proteção aos órgãos-alvo das lesões teciduais promovidas pela hipertensão renovascular (FONG et al., 2010; RUGGENENTI et al., 2019).

Outra função interessante do Benazepril, é que ele reduz a mortalidade de células do tecido cardíaco, e melhora os sintomas e o resultado a longo prazo do infarto agudo do miocárdio (IAM). (GOMEZ, 1991; HE et al., 2009).

## **1.9 L-ARGININA**

A L-Arginina é um aminoácido catiônico semi-essencial, muito importante para o crescimento fisiológico ideal, e também auxilia contra estados catabólicos, como trauma, queimaduras graves, estresse, sepse e fome. Além de seu papel como um bloco de construção para a síntese de proteínas, a L-Arginina estimula a liberação de hormônios como insulina, glucagon, hormônio do crescimento e prolactina. E é um precursor na síntese de ureia, creatina, agmatina e poliaminas como espermina e putrescina, conhecidas por estarem envolvidas na retificação interna dos canais de K<sup>+</sup> no nervo e no músculo (PELUFFO, 2007).

Estudos de Gouvea et al 2014 e Santuzzi et al 2015 mostraram que a L-Arginina exógena pode reduzir significativamente a hipertensão dependente da ANG II e os danos renais relacionados. L-Arginina é o substrato para NO sintase (NOS) e é essencial para a formação de NO dependente de endotélio em vasos sanguíneos in vivo ou células endoteliais cultivadas (GOUVEA et al., 2004). Além de aumentar significativamente os níveis de nitrato/nitrito no plasma, que é um índice do teor de NO circulante, e também aumenta a excreção renal de água e sódio, promovendo a restauração da disfunção endotelial e redução da pressão arterial na hipertensão experimental (GOUVÊA et al., 2003).

Foi demonstrado que uma dieta pobre em L-Arginina que é a principal precursor para a síntese de óxido nítrico, mostrou diferenças notáveis nos derivados da pressão do ventrículo esquerdo, bem como na massa do ventrículo esquerdo e do gastrocnêmico (STEFANI et al., 2018). O bloqueio da produção de óxido nítrico (ON), em ratos normotensos saudáveis reproduz a hiperatividade mecanorreflexa demonstrada em animais hipertensos (LEAL; MITCHELL; SMITH, 2013). O tratamento à base de L-Arginina reduziu a pressão arterial não só pelos efeitos vasodilatadores da formação de NO, mas também pelo aumento na excreção renal de água e sódio nos processos metabólicos (GOUVEA et al., 2014; SANTUZZI et al., 2015). A infusão de L-Arginina causa profundas alterações hemodinâmicas renais,

que podem ser relacionados a alterações na excreção de água e sódio no modelo de hipertensão 2R1C (GOUVÊA et al., 2003).

A condição semi-essencial da L-Arginina faz com que a disponibilidade local dela no tecido cardíaco, por mecanismos de reaproveitamento, seja precária. Como consequência, a L-Arginina deve ser transportada para os tecidos a partir da circulação, para garantir níveis intracelulares adequados. Um exemplo disso é o aumento da capacidade de transporte de L-Arginina que ocorre em paralelo com a expressão de NOS induzível para apoiar a síntese de NO. Já a precariedade da disponibilidade de L-Arginina faz com que a NOS seja capaz de gerar radicais superóxido e peroxinitrito, um dos principais contribuintes para a depressão miocárdica (PELUFFO, 2007). O estudo de Tiradentes et al 2015 mostrou que o tratamento via oral a base de L-Arginina reduziu a PAS e atuou no rim, possivelmente induzindo alterações na hemodinâmica renal ou no transporte tubular devido ao aumento da formação de óxido nítrico (NO). Estes efeitos diuréticos e natriuréticos da L-Arginina podem resultar de alterações diretas na hemodinâmica renal e/ou opondo-se aos efeitos do sistema renina angiotensina renal sobre a água e o sódio (GOUVÊA et al., 2003).

### **1.10 ASSOCIAÇÃO**

As principais diretrizes para doenças CV propõem que a terapia anti-hipertensiva geralmente deve ser iniciada com um único medicamento, incluindo inibidores da ECA, bloqueadores de receptores de ANG II (BRA,) diuréticos tiazídicos, bloqueadores dos canais de cálcio (BCCs) ou b-bloqueadores. No entanto, a proporção de pacientes que atingem níveis 'normais' de PA após o tratamento com monoterapia geralmente não excede 20-30% na população geral de hipertensos. Uma meta-análise publicada em 2003 mostrou que reduzir pela metade a dose da maioria dos medicamentos para baixar a PA reduziu substancialmente a prevalência



de eventos adversos (EAs), mas reduziu o efeito de redução da PA em apenas aproximadamente 20% (BARRIOS; ESCOBAR, 2010).

Há hipóteses de que a reversão no processo de dano tecidual oferecida pelos atuais tratamentos a base de IECAs é limitada, devido a incapacidade de atuar de forma completa em todos os tecidos afetados pelo SRAA. Sendo esse mais um indicio dá necessidade de um tratamento em conjunto com fármacos que possuem atuações em tecidos distintos, influenciados por comorbidades no complexo sistema que influencia as funções renais e cardiovasculares (OHSAWA et al., 2013; RUZICKA et al., 2007).

Os tratamentos combinados mais frequentemente prescritos incluem inibidores do sistema renina-angiotensina (inibidores da ECA ou BRA) mais diuréticos tiazídicos ou BCCs. Essas drogas possuem mecanismos de ação complementares; por exemplo, os inibidores da ECA e os BRAs bloqueiam o sistema renina-angiotensina-aldosterona, enquanto as tiazidas agem alterando o volume sanguíneo e o equilíbrio salino, e os BCCs agem reduzindo a resistência vascular (BARRIOS; ESCOBAR, 2010).

A aplicação de um segundo medicamento é feita quando o primeiro administrado não tiver surtido efeito. Entretanto, por volta de 77% dos tratamentos de disfunções cardiovasculares de caráter efetivo, são utilizados dois ou mais medicamentos, e isso acaba suprimindo os modelos e vias da atuação do complexo sistema da pressão arterial, como a atividade do sistema nervoso simpático, o sistema renina-angiotensina-aldosterona e a via do NO. Sendo a priori, a junção de um inibidor da ECA e conseqüentemente o SRAA, com a L-Arginina que é um aminoácido semi-essencial precursor do NO, poderia resultar não apenas na queda da PA mas também na proteção e também reversão do quadro de dano ao tecido dos órgãos alvos (KEREIAKES et al., 2007; OPARIL; SCHMIEDER, 2015; RUGGENENTI et al., 2021; RUILOPE; SCHMIEDER, 2008).

O Comitê Nacional Conjunto para Detecção, Avaliação e Tratamento da Pressão Arterial Elevada. Estudos sugerem que a terapia em baixas doses com dois medicamentos com diferentes mecanismos de ação, pode ser mais eficaz e pode estar associada a menos efeitos colaterais, do que o tratamento com um único medicamento para o tratamento da pressão renovascular, pois é um quadro hipertensivo que relaciona dois sistemas que é o renal e o cardiovascular (KUSCHNIR et al., 1996; RUGGENENTI et al., 2019). Drogas que possuem como alvo o SRAA, como IECA e bloqueadores do receptor-1 da angiotensina (AT1), são eficazes na redução da pressão arterial, além de atenuar a morbidade e mortalidade do tecido cardíaco (SANTUZZI et al., 2015).

A terapia inicial para hipertensão com uma combinação de medicamentos é recomendada pelo sétimo relatório do Comitê Nacional Conjunto para Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento da Pressão Arterial Alta (JNC 7) e pelas diretrizes europeias para pacientes cujas pressões sanguíneas são 20/10 mm Hg ou mais acima dos padrões de normalidade. O processo terapêutico era inicialmente promovido com um medicamento para o tratamento da hipertensão, porém foi constatado através de relatos, da superioridade do tratamento em conjunto em comparação com o tratamento utilizando um único fármaco (FONG et al., 2010; RUGGENENTI et al., 2019).

Isso se deve em sua grande maioria, a utilização de fármacos com finalidades distintas, sendo normalmente um com a finalidade de diminuir a pressão cardiovascular, e o outro para promover proteção do tecido cardíaco, além da reversão do quadro de hipertrofia ventricular esquerda. Há relatos que a predominância simpática em pacientes com doença-renal-coronariana (DRC), contribui para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca, apesar do tratamento anti-hipertensivo (DEROSA; MAFFIOLI, 2011; OHSAWA et al., 2013). Partindo do pressuposto de que o Benazepril como um bloqueador da ECA, agindo assim em nível de casca de conversão, mais a adição da L-arginina, o presente projeto visa

elucidar os benefícios dessa associação no controle da pressão arterial e na reversão e/ou prevenção das consequências cardíacas desencadeadas pela hipertensão renovascular.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 OBJETIVO GERAL:**

Investigar os efeitos do Benazepril e L-arginina administrados de maneira isolada ou associada sobre aspectos histológicos cardíacos de ratos com hipertensão renovascular 2R1C.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- ✓ Avaliar o efeito dos tratamentos sobre a pressão arterial sistólica e frequência cardíaca;
- ✓ Avaliar o efeito do tratamento sobre o peso final;
- ✓ Verificar a influência dos tratamentos sobre aspectos histológicos cardíacos;
- ✓ Detectar a produção in situ de ânion superóxido no tecido cardíaco;

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS**

Neste estudo foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), pesando 120-160g, provenientes do Biotério do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo. Tais animais foram mantidos em gaiolas individuais, com temperaturas de 22–24 °C e umidade relativa do ar de 40–60%) e um ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à água e à ração (dieta padrão para animais alojados, Purina Labina, SP, Brasil).

O uso e cuidado desses animais experimentais foram realizados de acordo com os princípios éticos da pesquisa com animais, estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA-1991). Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação e Uso de Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA-UFES 15/2017).

#### **3.2 PRODUÇÃO DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C)**

Sob anestesia intraperitoneal com Ketamina (80 mg.kg<sup>-1</sup>) e xilazina (10 mg.kg<sup>-1</sup>), foi realizada tricotomia, com posterior assepsia com álcool à 70% na região mediana e do flanco esquerdo do animal. Foi realizada uma incisão no flanco esquerdo com exposição do pedúnculo renal. A artéria renal foi isolada da veia renal e posteriormente colocado um clipe de prata pré-calibrado com um grau de constrição equivalente ao diâmetro interno de 0,2 mm na artéria renal esquerdo do animal para indução da hipertensão renovascular 2R1C. Após o procedimento, a incisão foi suturada e o animal foi acondicionado em gaiolas individuais e mantido no biotério sob observação constante durante sete dias. Os ratos Sham foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, com manipulação da artéria renal esquerda, porém não foi implantado o clipe de prata. O critério de inclusão para a hipertensão, no

presente estudo, foi uma pressão arterial sistólica (PAS) maior que 140 mmHg após sete dias da cirurgia.

### **3.3 AFERIÇÃO INDIRETA DA PRESSÃO ARTERIAL**

Os animais foram previamente climatizados, durante três dias antes da mensuração, para adaptarem-se ao pletismógrafo de cauda (IITC Life Science– 23924 Victory Blvd, Woodland Hills, CA), e desta forma, prevenir alterações pressóricas devido ao estresse do animal frente ao procedimento. Após calibração do aparelho, os ratos foram acondicionados em contentores de acrílico, selecionados de acordo com o tamanho do animal e mantido em um ambiente aquecido em temperatura aproximada de 32°C por aproximadamente 20min para obtenção de uma adequada vasodilatação caudal, sendo que a medida indireta é aferida por meio de um transdutor fotoelétrico colocado na porção proximal da cauda e posterior insuflação do manguito e registro da onda de pulso. A média de três medidas foi utilizada.

No registro da PAS e da frequência cardíaca (BPM), ao insuflar o manguito ocorre a perda dos sinais de pulso e o retorno desses sinais ocorre ao longo da desinsuflação do manguito. Portanto, a PAS foi considerada como sendo o primeiro sinal de pulso de retorno deste processo. A medida indireta da PAS foi realizada 7 após o procedimento cirúrgico para indução da hipertensão renovascular e ao final do período de tratamento.

### **3.4 TRATAMENTO**

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em cinco grupos experimentais (n = 8 por grupo): Dois rins, um clipe (2R1C; hipertensos); Dois rins, um clipe tratado com Benazepril, (Benazepril; Novartis, Itália) (BEN; Benazepril 40mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> diluído em água, por gavagem, 0,3 ml); Dois rins, um clipe tratado com L-arginina (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) (L-ARG; L-arginina 10 mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> diluído em água, por gavagem, 0,3

ml) e Dois rins, um clipe tratados com Benazepril associado à L-arginina (BEN+L-ARG; alisquireno 40 mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> e L-arginina 10mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> diluído em água, por gavage, 0,6 ml).

Todos os tratamentos foram iniciados após sete dias do procedimento cirúrgico para produção da hipertensão 2R1C, com duração de vinte e um dias consecutivos, totalizando 28 dias de hipertensão renovascular.

### **3.5 ANÁLISES HISTOLÓGICAS**

Os ratos foram eutanasiados, e seu tecido ventricular esquerdo foi retirado, além de serem separados e armazenados em recipientes contendo solução tamponada de formol (10%) (RAJAPAKSE et al., 2008). Os tecidos ventriculares fixados em formol foram divididos em anéis, em três fatias transversais de aproximadamente 2 mm. As fatias passaram por processo de desidratação em banho de álcool, diafanização em banhos de xilol e inclusão em bloco com banhos de parafina. Foram feitos cortes transversais em cada fatia com espessura de 4µm e montados em lâminas de vidro, sendo coradas com picrossírius (Picrossírius Red, F3BA, FLUKA, EUA) e hematoxilina e eosina (Vetec, Brasil) para as análises específicas descritas e seguir.

### **3.6 ANÁLISES DO COLÁGENO E HIPERTROFIA**

As imagens foram obtidas com uma câmera digital (Evolution, Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD) acoplado a um microscópio óptico (Eclipse 400, Nikon) sob aumento de 400x, e pelo menos 10 imagens de cada animal foram analisadas, onde foi determinado a quantidade de núcleos observáveis no corte histológico. Cada foto foi dividida em quatro quadrantes, sendo padronizado para a quantificação o quadrante superior esquerdo. O mesmo procedimento foi realizado para obtenção das imagens para deposição de colágeno, e o número de pixels que compõem o colágeno foi determinado usando um software livre, o espaço em branco da imagem foi desconsiderado para quantificar o colágeno. Todas as análises foram realizadas no software Image J® (v. 1.43u, National Institutes of Health, EUA).

### 3.7 FLUORESCENCIA PRODUZIDA PELA OXIDAÇÃO DO DIHIDROETIDEO (DHE)

Para avaliar o efeito do tratamento crônico com AE sobre a produção “in situ” de  $O_2^{\bullet-}$ , foi utilizado o método por fluorescência produzida pela oxidação do dihidroetideo (DHE). Na presença de  $O_2^{\bullet-}$ , o hidroetídio oxida-se dentro da célula produzindo o composto brometo de etídio, que tem afinidade pelo DNA nuclear das células, emitindo fluorescência detectada pelo filtro vermelho. O VE foi mantido por 1 hora em solução Krebs-Henseleit com sacarose 30% (8 mM HEPES, 2mM  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 130mM NaCl, 5mM KCl, 2,45mM  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 11,1mM sacarose, pH 7,4). Posteriormente, este tecido foi congelado em meio adequado (meio de congelamento, Tissue Tek-OCT). Assim, as amostras foram mantidas a  $-80^\circ C$  até o dia do experimento. Seções congeladas não fixadas do coração foram cortadas em seções de 4  $\mu m$  de espessura e montadas em lâminas de vidro gelatinizadas. As amostras foram lavadas e incubadas com uma solução de Krebs modificada (contendo HEPES 20 mM) por 30 minutos em uma câmara úmida a  $37^\circ C$  e, posteriormente, foram incubadas com o corante fluorescente oxidativo dihidroetídio (DHE, 2  $\mu mol / L$ ) em uma câmara escura a  $37^\circ C$  por 30 min. As imagens foram visualizadas por meio do microscópio de fluorescência invertido (DMi8, Leica Microsystems, Alemanha), no qual a intensidade da fluorescência foi detectada a 585 nm e quantificada a partir das imagens de seções do tecido cardíaco utilizando o *software* ImageJ (National Institutes of Health, EUA) por um investigador cego ao protocolo experimental, sendo o resultado expresso como intensidade de fluorescência (unidades arbitrárias), normalizado pela intensidade do background.



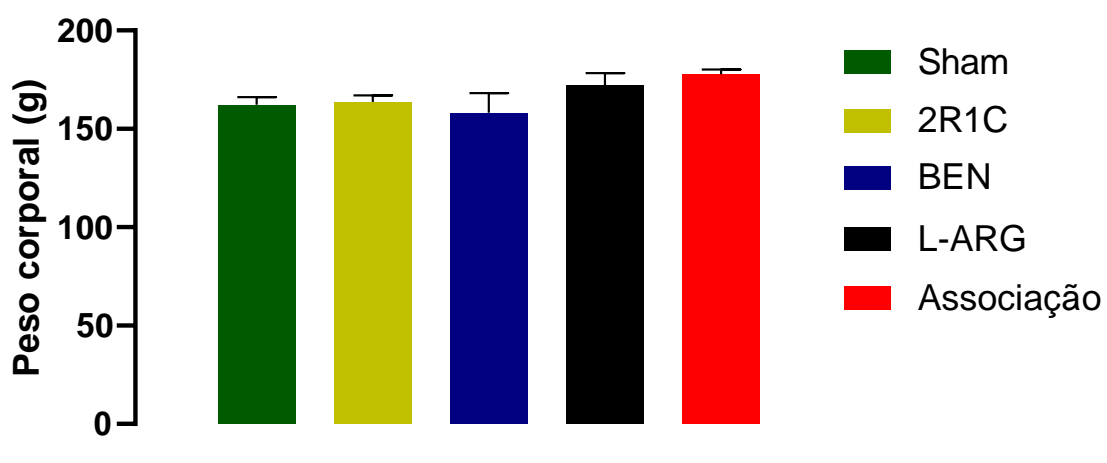
#### **4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para análise estatística das variáveis estudadas foi efetuada análise de variância (ANOVA) de uma via através do Prisma, seguida pelo cálculo das diferenças mínimas significativas entre as médias, pelo teste Tukey. Os níveis de significância estabelecido foi  $p < 0,05$ .

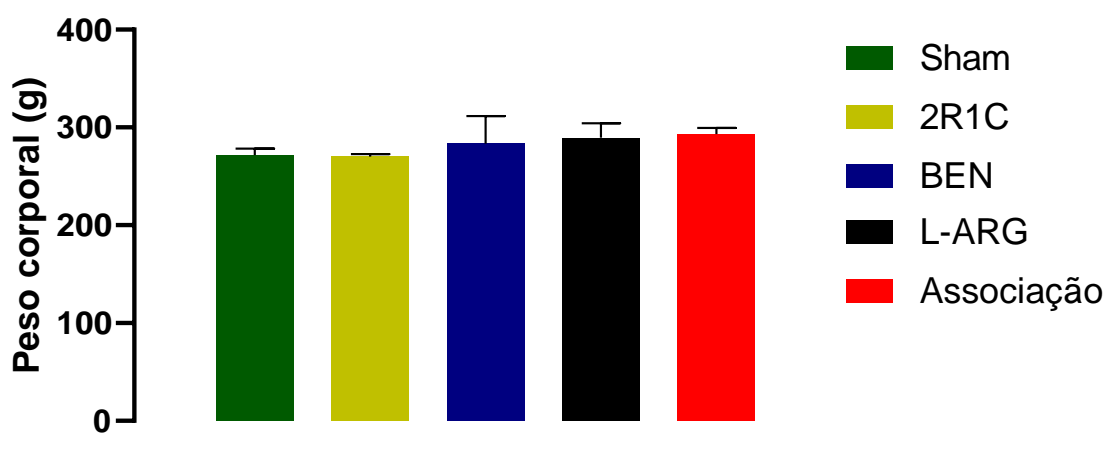
## 5 RESULTADO

### 5.1 PESO CORPORAL

Conforme apresentado, observa-se que não houve diferença significativa no peso corporal inicial entre os grupos (Figura 1). Ao final do tratamento, não houve diferença no peso corporal dos grupos tratados em relação ao grupo Sham e 2R1C (Figura 2).



**Figura 1.** Avaliação do peso corporal (g) inicial de ratos com hipertensão renovascular 2R1C e SHAM. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo).



**Figura 2.** Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + BEN (Associação) sobre peso corporal (g) final após 21 dias de tratamento de ratos com hipertensão renovascular 2R1C. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo).

## 5.2 PRESSÃO ARTERIAL

No início do estudo (dia 0), antes da cirurgia para implantação do clipe na artéria renal, os valores de PAS foram semelhantes em todos os grupos experimentais (Figura 3). Após a primeira semana da aplicação do clipe (dia 7) como esperado, houve um aumento significativo nos níveis pressóricos do grupo 2R1C em comparação com o grupo SHAM (Figura 4). Após 21 dias de tratamento (dia 28), houve uma redução da PA nos grupos Benazepril e L-Arginina em comparação ao grupo 2R1C. Entretanto, o tratamento isolado com L-Arginina foi capaz de reduzir os níveis pressóricos quando comparado ao grupo 2R1C, e o grupo tratado com a Associação de Benazepril e L-Arginina conseguiu normalizar os valores de PAS, apresentando valores semelhantes ao grupo SHAM.

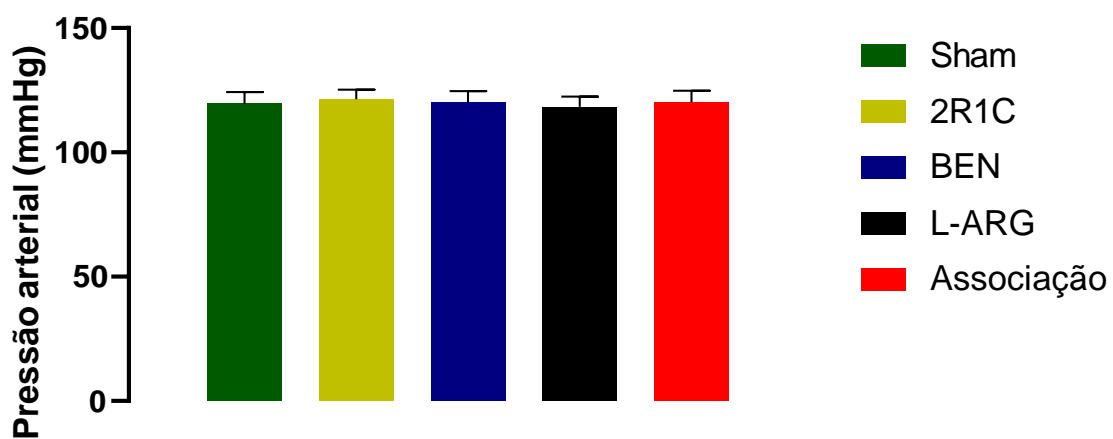


Figura 3. Valores iniciais de Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos com hipertensão renovascular 2R1C e Sham. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo).

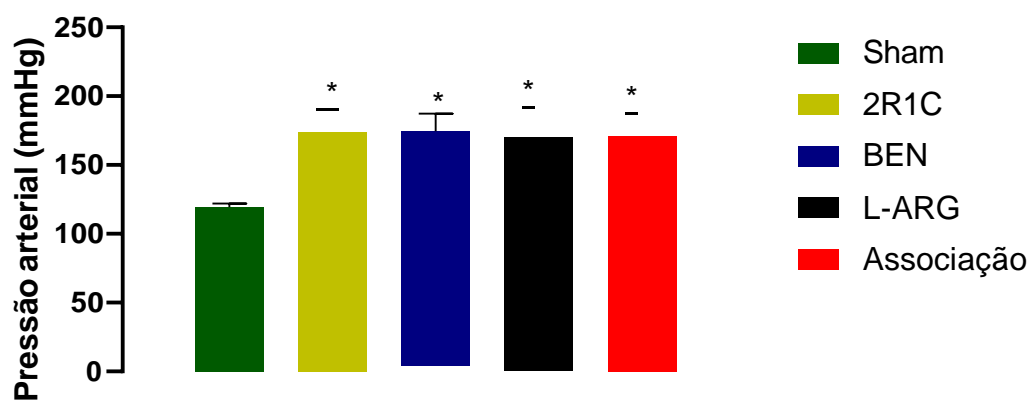


Figura 4. Efeitos da indução da hipertensão 2R1C sobre a Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos no sétimo dia antes iniciar o tratamento. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C (One-way ANOVA/Tukey).

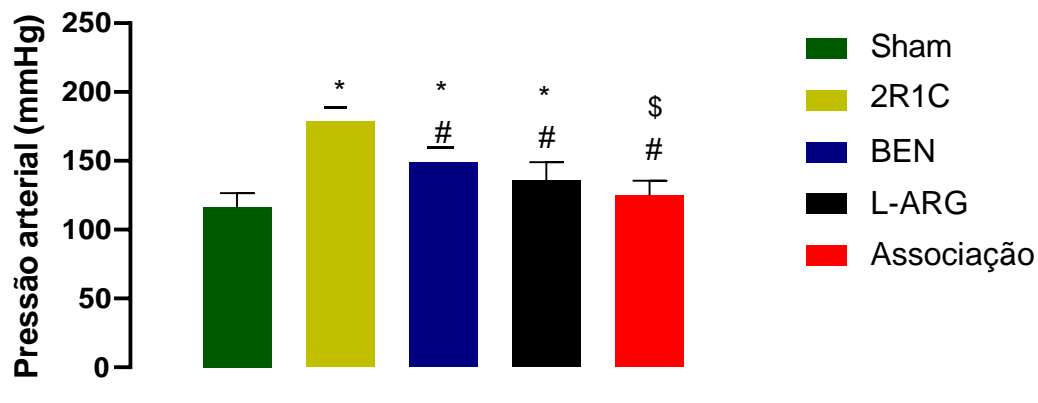


Figura 5. Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + Benazepril (Associação), sobre a Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg) em ratos ao final do tratamento. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C e \$#P <0,05 em relação ao grupo BEN. (One-way ANOVA/Tukey).

### 5.3 FREQUENCIA CARDIACA

Inicialmente (dia 0), antes da inoculação do clipe de prata na artéria renal do rim esquerdo, como essa esperado, não teve nenhuma distinção na frequência cardíaca entre os grupos (Figura 6). Também como era esperado, no segundo estágio da aferição (dia 7), houve uma elevação na frequência cardíaca em todos os grupos que foram submetidos a técnica de 2R1C em comparação com o grupo SHAM (Figura 7). No último dia de tratamento (dia 28), teve uma distinção significativa dos grupos tratados em comparação com o grupo 2R1C (Figura 9) ( $p < 0,05$ ).

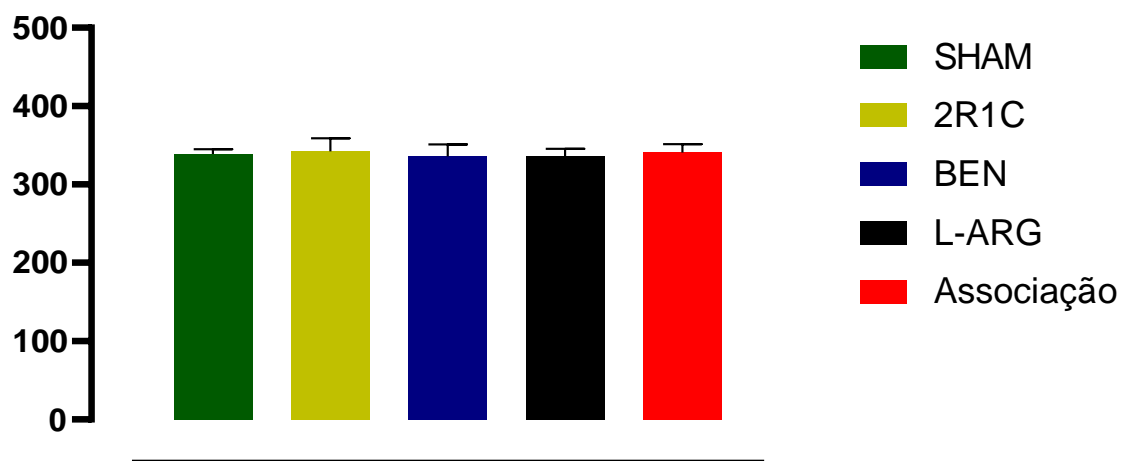


Figura 6. Valores iniciais da frequência cardíaca (BPM), ratos que não passaram pelo procedimento de 2R1C. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo).

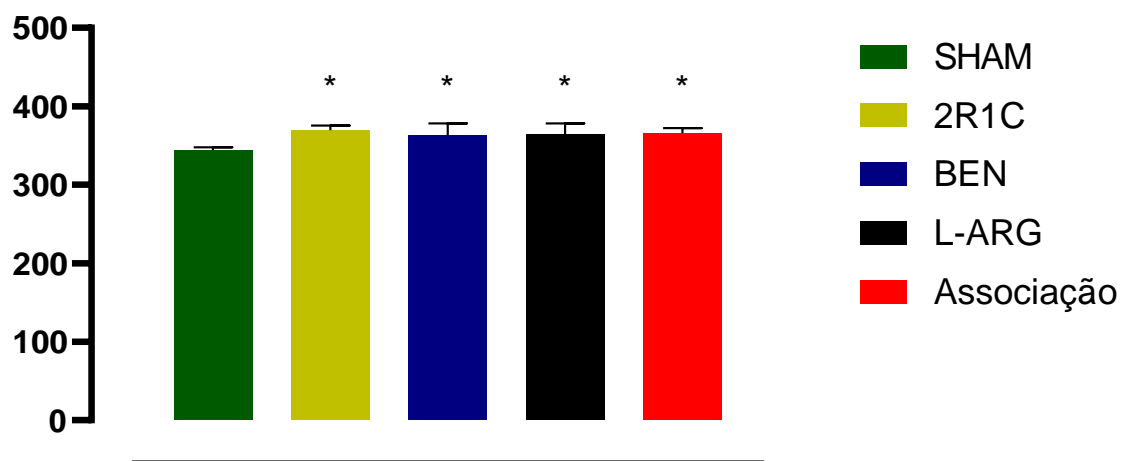


Figura 7. Efeitos da indução da hipertensão 2R1C sobre a Frequência Cardíaca (BPM) em ratos no sétimo dia antes iniciar o tratamento. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C (One-way ANOVA/Tukey).

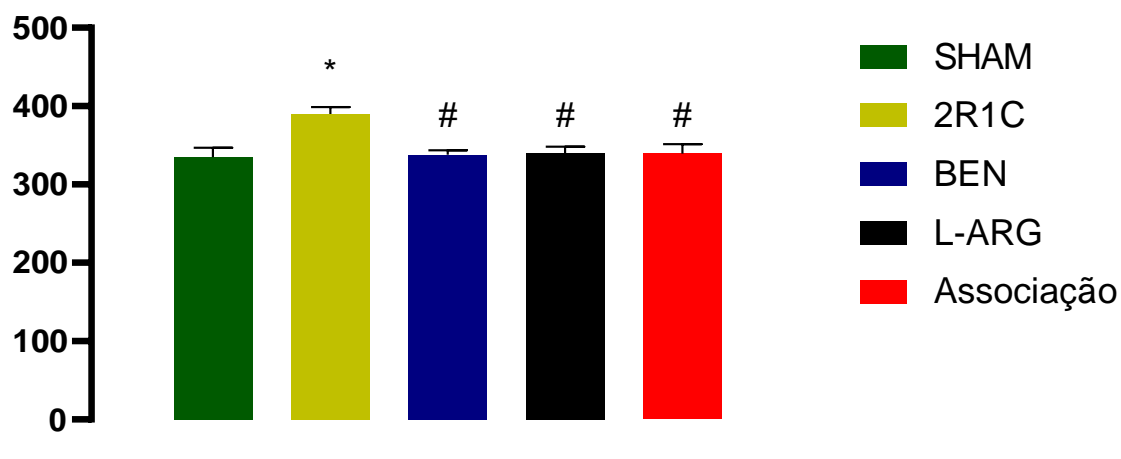
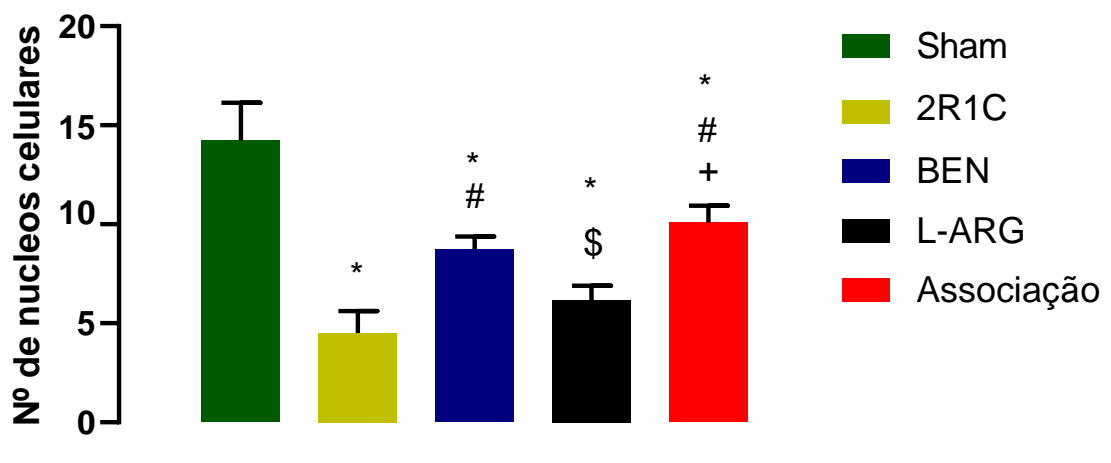
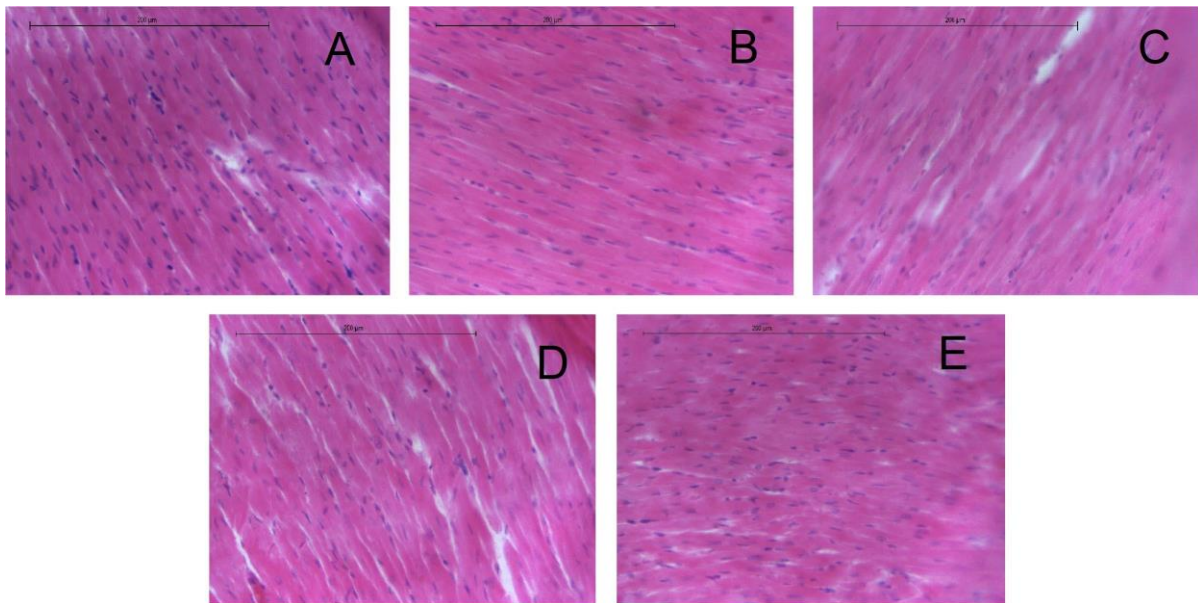


Figura 8. Efeitos dos tratamentos com L-arginina (L-ARG), Benazepril (BEN) e L-arginina + Benazepril (Associação), sobre a Ffrequência cardíaca (BPM) em ratos ao final do tratamento. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (N= 8 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM e #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C #P <0,05 em relação aos grupos BEN, L-ARG e Associação. (One-way ANOVA/Tukey).

#### 5.4 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDIACA

A hipertrofia do ventrículo esquerdo é uma característica da hipertensão arterial. De fato, a análise microscópica e morfométrica dos animais 2R1C evidenciaram uma diminuição no número núcleos cardíacos observáveis por campo estabelecido. É possível observar uma diferença significativa no número de núcleos de cardiomiócitos no grupo 2R1C em comparação com o grupo SHAM, Benazepril e Associação, onde esses se apresentaram em maior quantidade (figura 6).

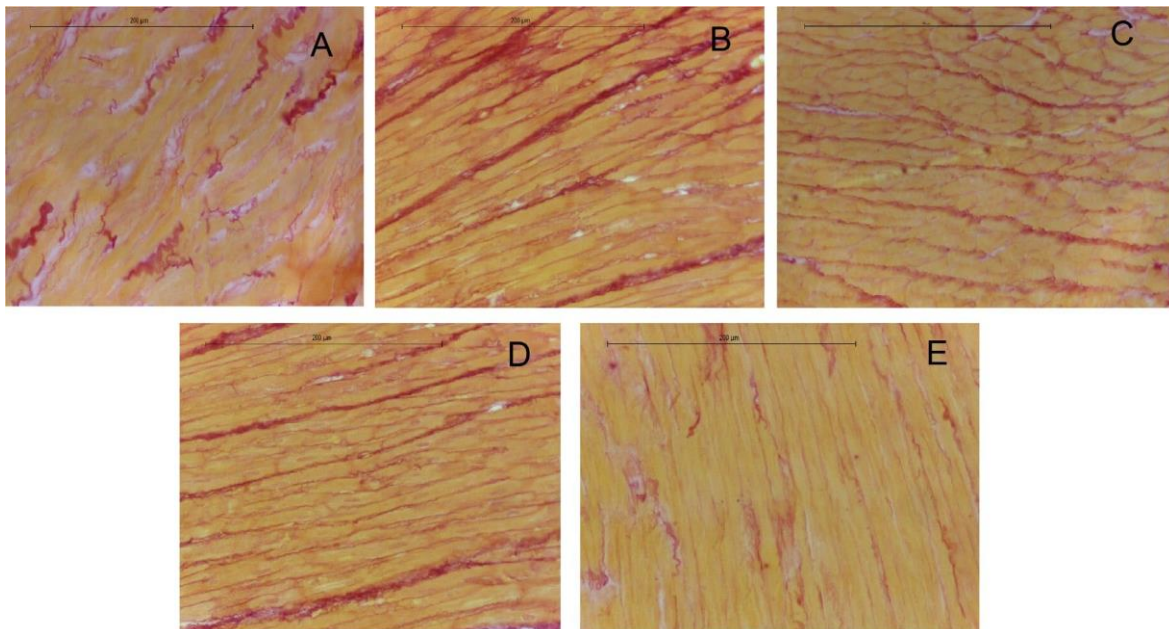


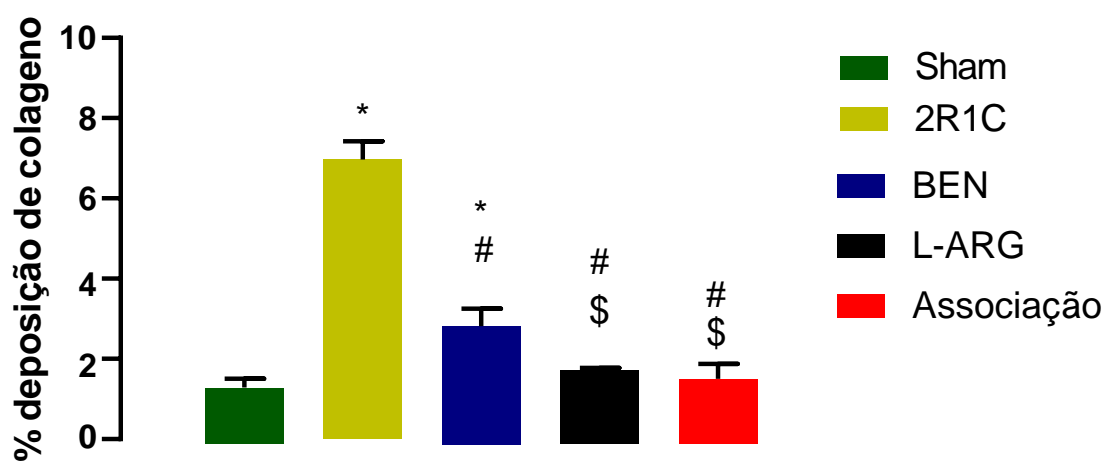
**Figura 9.** Imagens histológicas representativas de ventrículo esquerdo coradas utilizando hematoxilina e eosina (Sham:A; 2R1C:B; Benazepril:C; L-Arginina:D; Associação: E) e picrossirius red (PR) (SHAM:C; 2K1C:F; ALSK:I; L-ARG:L; Associação: O) de ratos controle e tratados com Benazepril e L-arginina. Quantificação do número de núcleos. Valores expressos em média ± EPM; (n = 5 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C e /P <0,05 em relação ao grupo BEN e em relação ao grupo L-arg. (One-way ANOVA/Tukey).



## 5.5 AVALIAÇÃO DA DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO INTERSTICIAL

A análise das lâminas coradas com picrosílios como esperado, mostraram que o grupo 2R1C teve uma maior deposição de colágeno nos cardiomiócitos se comparados com o grupo SHAM. Como demonstrado na figura, a hipertensão renovascular levou a um aumento significativo da deposição de colágeno intersticial no grupo 2R1C, quando comparado aos grupos Sham, Benazepril, L-Arginina Associação. Avaliando o efeito do tratamento sobre a deposição de colágeno intersticial, observou-se que o tratamento reduziu a deposição de colágeno nos grupos Benazepril, L-Arginina, Associação, após os 21 de tratamento.

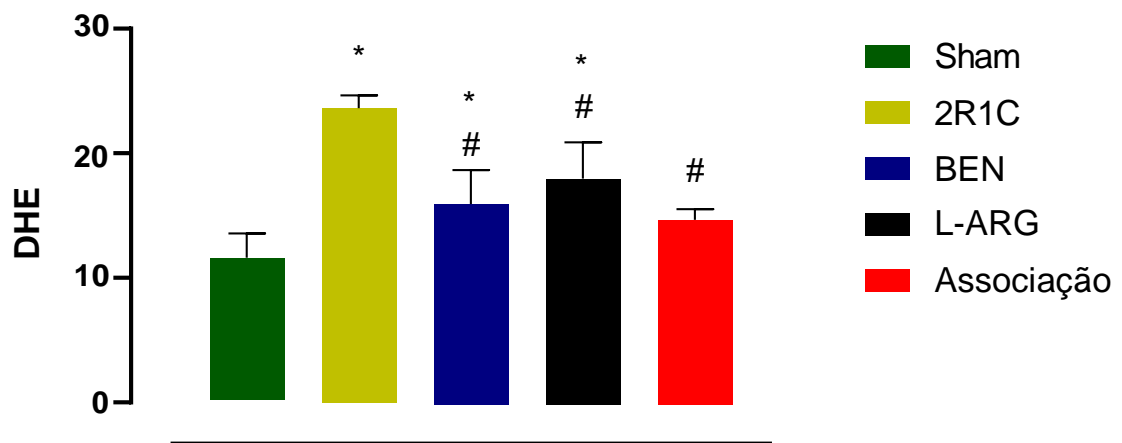
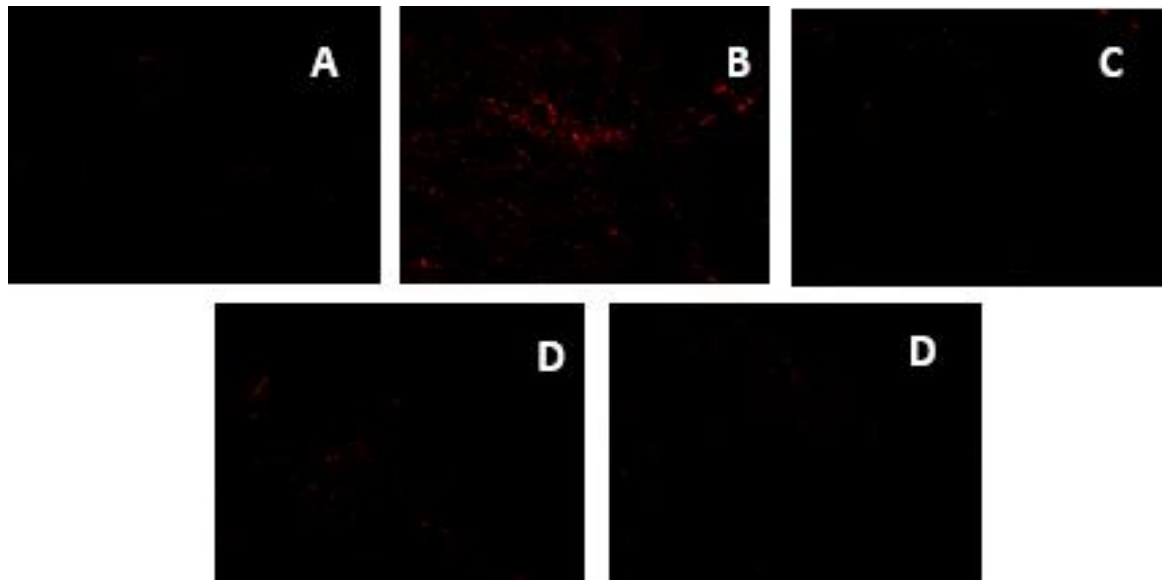




**Figura 10.** Imagens histológicas representativas de seções arteriais microscópicas coradas utilizando picrosirius red (PR) ((SHAM:A; 2R1C:B; BEN:C; L-ARG:D; Associação: E) obtida de ventrículo esquerdo de ratos controle e tratados. Quantificação do conteúdo de colágeno (Q). Valores expressos em média ± EPM; (n = 5 por grupo). \*P <0,05 em relação ao grupo SHAM; #P <0,05 em relação ao grupo 2R1C e /P <0,05 em relação ao grupo BEN e \$ em relação ao grupo L-arg. (One-way ANOVA/Tukey).

## 5.7 ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO PELA FLUORESCÊNCIA DE DIHYDROETHIDIUM

A análise da fluorescência produzida pelo DHE no ventrículo esquerdo como esperado, revelou um aumento da produção de EROs nos animais 2R1C, devido a intensidade da fluorescência, quando comparado aos grupos Sham ( $p < 0.05$ ). Assim também como nos animais tratados com monoterapia de Benazepril e L-arginina quando comparados ao grupo Sham. O tratamento com Benazepril e L-Arginina de forma isolada foi capaz de reduzir, porém não normalizar os valores de fluorescência. O tratamento em associação de Benazepril e L-arginina apresentou redução significativa de EROs sendo essa normalizada em relação grupo Sham.



**Figura 11.** Imagens de microscopia apresentam a fluorescência emitida por Dihidroetídeo no ventrículo esquerdo dos ratos SHAM (A), 2R1C (B), BEN (C), L-ARG (D) e Associação (E). Gráfico com valores da fluorescência emitida por Dihidroetídeo no ventrículo esquerdo. Valores expressos em média  $\pm$  EPM; (n = 5 por grupo). \* P < 0.05 em relação ao grupo SHAM; # P < 0.05 em relação ao grupo 2R1C.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como foco analisar os efeitos dos tratamentos, L-Arginina e Benazepril e Associação de L-Arginina + Benazepril, sobre os aspectos histológicos cardíacos de ratos com hipertensão renovascular. Dessa forma o modelo experimental de hipertensão renovascular 2R1C de Goldblatt tem tido ampla utilização na pesquisa sobre a fisiopatologia da hipertensão arterial, por ter ampla similaridade com a hipertensão renovascular humana. É de conhecimento e amplamente publicado pela academia, que a fisiopatologia da hipertensão renovascular esta relacionada com mudanças hormonais, hemodinâmicas e neurais ocorrendo por consequência da estenose da artéria renal. A ANG II que é um hormônio consequente do SRAA, tem grande atuação no quadro de hipertensão proveniente de comorbidade renal (BESSAGUET et al., 2016).

Há fármacos utilizados no tratamento contra comorbidades por exemplo os IECAs, e o Benazepril é um dos modelos que a mais tempo vem sido utilizado como inibidor da ECA. Juntamente com isso, fármacos capazes de aumentar a biodisponibilidade de NO, e consequentemente diminuir o estresse oxidativo, vem sendo investigado. Devido a isso, escolhemos um medicamento que atua inibindo a ECA No SRAA, o Benazepril, e o aminoácido semi-essencial L-arginina, precursor da síntese do mais atuante vasodilatador sintetizado no endotélio, o NO, para avaliar suas efetividades isolada e em associada, sobre a pressão arterial, estresse oxidativo e hipertrofia cardíaca de ratos com hipertensão renovascular, o que posteriormente poderia ser uma via terapêutica para o tratamento da nefropatia e hipertensão.

Como consequência da hipertensão renovascular, o tecido cardíaco pode sofrer danos a nível de tecido, devido ao aumento de radicais livres, que promove o aumento de colágeno nos cardiomiócitos, que promove a hiperplasia das células cardíacas, e a hipertrófica do ventrículo esquerdo e promove disfunção cardíaca.

Sendo assim, avaliamos as amostras de tecido ventricular esquerda, através de análises de cortes histológicos corados com coloração picrossílios. Foi observado uma diminuição significativa de deposição de colágeno nos animais dos grupos tratados Associação, L-Arginina e Benazepril, em comparação com o grupo 2R1C.

Diante dos resultados aqui externados tivemos alguns achados: i) o tratamento diminuiu a deposição de colágeno nos cardiomiócitos; ii) diminuiu o estresse oxidativo no tecido cardíaco; iii) aumentou o número I de núcleos observáveis dos cardiomiócitos, se aproximando porém não se igualando ao grupo Sham; iv) diminuiu a frequência cardíaca. No que diz respeito ao peso corporal, não houve diferenças significativas entre os grupos ao final do tratamento e os tratamentos foram capazes de reduzir a pressão arterial, sendo que a associação da L-arg+ BEN normalizou a pressão.

Em nosso estudo, os animais que realizaram os vinte e um dias de tratamento apresentaram uma redução no quadro de hipertensão em comparação com o grupo 2R1C. Devido a atuação dos dois fármacos na monoterapia da hipertensão, o grupo tratado com a associação de L-Arginina e Benazepril teve o melhor desempenho. Um dos mecanismos que pode explicar os efeitos benéficos do tratamento sobre a deposição de colágeno, está na redução da atividade do SRAA proveniente do Benazepril, e o aumento da biodisponibilidade do NO devido a aplicação de seu precursor a L-Arginina. E como esperado, o tratamento em associação de um inibidor da ECA e um precursor do NO, que agem em estágios diferentes na diminuição sistêmica de EROs, que é um dos principais agentes do remodelamento cardíaco (KHALAF et al., 2019; MENGAL et al., 2016; RUGGENENTI et al., 2019).

Por outro lado, a administração isolada de L-arginina foi capaz de reduzir, apesar de não normalizar, a PAS de ratos com hipertensão renovascular (Gouvea *et al.*, 2004; 2008; Santuzzi *et al.*, 2014; Tiradentes *et al.*, 2015), corroborando com nossos

achados, demonstrando dessa forma que o tratamento com L-arginina apresenta significativo efeito sobre a redução dos níveis pressóricos, e sobretudo, na proteção de órgãos-alvo, considerando sua capacidade de aumentar a disponibilidade de NO e diminuir o estresse oxidativo (Deng *et al.*, 1995; Ackermann *et al.*, 1998; Mengal *et al.*, 2015). Apontando dessa forma o tratamento com L-arginina como promissor na redução da hipertensão arterial. Adicionalmente, existe um efeito benéfico na L-arginina sobre o controle da pressão arterial, uma vez que o aumento da biodisponibilidade de NO está relacionado a ações antioxidantes, por interações diretas entre NO e EROs.

Achados anteriores do nosso laboratório mostram que a combinação da L-arginina e o Alisquireno resultaram não apenas na redução significativa da hipertensão arterial, mas também melhorando a diurese e natriurese nos animais hipertensos tratados, reversão da hipertrofia cardíaca, aumento da massa do rim clipado e redução significativa da atividade da ECA no plasma, coração e rim cuja artéria renal recebeu o clipe e melhora na função barorreflexa (Santuzzi *et al.*, 2014; Tiradentes *et al.*, 2015; Mengal *et al.*, 2015). Neste estudo observamos a combinação de Benazepril e L-arginina também apresentaram efeitos benéficos sobre o ventrículo esquerdo. Uma hipótese da hipertrofia ventricular esquerda foi levantada, devido a associação dessa característica com um aumento significativo nos níveis de colágeno no grupo 2R1C, com a menor quantificação de núcleos dos cardiomiócitos, o que pode sugerir que a deposição de colágeno aumentou a espessura dos mesmos, e diminuiu a visibilidade dos núcleos na amostra de tecido ventricular. Corroborando com as análises histológicas desse estudo, e com a literatura (BRASIL *et al.*, 2018; RONCHI *et al.*, 2021).

O tratamento com um IECA está bem consolidado como uma forma eficiente de tratamento no controle do SRAA. Os inibidores da enzima conversora de angiotensina foram introduzidos no mercado em 1981 como tratamento para

hipertensão (BARRIOS; ESCOBAR, 2010; STOMPÓR; NAPORA; OLSZEWSKI, 2011). Entretanto, em nosso estudo o tratamento com Benazepril de forma isolada promoveu efeitos anti-hipertensivos no modelo de hipertensão 2R1C, porém foi inferior aos modelos de tratamento L-Arginina e Associação. Entretanto o estudo de Barrios et al 2010 foi demonstrado que houve uma inibição significativa da ECA em vários tecidos em ratos após a administração oral de Benazepril (1–45 mg/kg).

Hou et al 2010 em seu estudo, externa que durante muito tempo os inibidores da enzima conversora (IECA) e bloqueadores dos receptores da ANG II tipo 1 (BRA) tornaram-se a pedra angular no tratamento da DRC, pois inúmeras linhas de evidência mostraram que esses agentes têm um efeito redutor da pressão arterial independente do efeito anti-proteinúrico. Tendo uma proporção substancial de relatos de continuação do quadro de morbidade e mortalidade renal mesmo após a monoterapia de IECA ou BRA. Pode ser uma hipótese de que eles são incapazes de fornecer supressão completa do sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAS), o que corrobora com os dados do tratamento em associação apresentado por nosso estudo. Por outro lado, a administração isolada de L-arginina foi capaz de reduzir, apesar de não normalizar, a PAS de ratos com hipertensão renovascular. Corroborando com nossos achados, estudos anteriores demonstram que o tratamento com L-arginina apresenta significativo efeito sobre a redução dos níveis pressóricos, e sobretudo, na proteção de órgãos-alvo, considerando sua capacidade de aumentar a disponibilidade de NO e diminuir o estresse oxidativo.

Entretanto, a administração isolada de L-Arginina foi capaz de reduzir os níveis apesar de não normalizar, a PAS de ratos com hipertensão renovascular. Embasando assim os nossos achados. Estudos anteriores demonstram que o tratamento com L-Arginina apresenta efeito significativo sobre a redução dos níveis pressóricos, e sobretudo, na proteção de órgãos-alvo, considerando sua capacidade de aumentar a disponibilidade de NO e diminuir o estresse oxidativo. Estudos

anteriores desenvolvidos em nosso laboratório apontam para o tratamento com L-Arginina como promissor na redução da hipertensão arterial, mas também na melhora da diurese e natriurese nos animais hipertensos tratados, reversão da hipertrofia cardíaca, aumento da massa do rim clipado e redução significativa da atividade da ECA no plasma, coração e rim cuja artéria renal recebeu o clipe. Vários mecanismos poderiam justificar as ações do tratamento com L-arginina, um deles seria o aumento na formação de NO pelo rim (MENGAL et al., 2016; SANTUZZI et al., 2015; TIRADENTES et al., 2015). Diz et al 2008 em seu estudo, diz que cobaias com hipertensão proveniente da ANG II tiveram redução em 70% da frequência cardíaca após o tratamento a base de um bloqueador da ECA.

Por meio da avaliação da fluorescência produzida pela oxidação do Dihidroetídeo (DHE), foi observado aumento na formação de  $O_2^{\bullet-}$  no VE dos animais do grupo 2R1C quando comparado aos grupos Sham, L-Arginina, Benazepril e Associação. Os resultados externados aqui, embasam o que já visto na literatura, que relatam a participação das EROs nas alterações físicas, bioquímicas e fisiológicas no miocárdio. Corroborando também na relação do aumento na deposição de colágeno observados nas lâmina histológicas coradas com picrossírios, a diminuição dos núcleos quantificáveis nas lamina histológicas coradas com hematoxilina e eosina, e o aumento das EROs, todos esses no grupo 2R1C em comparação com o grupo com os grupos tratados com L-Arginina, Benazepril e Associação (ALMEIDA; COSTA; FERNANDA BAHIA, 2014; DE ALMEIDA et al., 2014; MILL et al., 2011).

O aumento na formação de NO pode ser um fator significativo na reversão do quadro de hipertensão renovascular 2R1C por melhorar a reperfusão renal, cardíaca e potencializar a vasodilatação sistêmica. Assim também como, o NO contribui para a reversão da hipertensão 2R1C, pois possui o efeito vasodilatador que é capaz de reduzir a hipertensão e manter a perfusão renal. Outro efeito benéfico da L-arginina



sobre o controle da pressão arterial, é que a grande disponibilidade sistêmica do NO tem efeito antioxidantes, por ter interações com as EROs (MENGAL et al., 2016).

## **7 CONCLUSÃO**

O tratamento com Benazepril e a L-arginina isolados foram capazes de reduzir os quadros de hipertensão e frequência cardíaca, deposição de colágeno, contagem do número de núcleos celulares dos cardiomiócitos e EROs, porém não reverte nenhum deles. Entretanto o tratamento em Associação foi capaz de reverter a pressão arterial, e muito provavelmente poderia promover redução da hipertrofia ventricular esquerda, precisaria de novos protocolos para corroborar tal hipótese, por redução na produção de espécies reativas de oxigênio e sua influência na inflamação na via do NO.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. A. LVE. DE et al. Exercise training reduces cardiac dysfunction and remodeling in ovariectomized rats submitted to myocardial infarction. **PloS one**, v. 9, n. 12, p. e115970, 2014.

ALMEIDA, I. F.; COSTA, P. C.; FERNANDA BAHIA, M. Optimization of a surfactant-free antioxidant formulation using response surface methodology. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, n. 1, p. 120–125, 2014.

ANN, S. H. et al. **Comparison between angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor blocker after percutaneous coronary intervention.** [s.l.] Elsevier B.V, 2020. v. 306

APEL, K.; HIRT, H. **Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction** **Annual Review of Plant Biology**, 2004.

ARRIBAS, S. M.; HINEK, A.; GONZÁLEZ, M. C. Elastic fibres and vascular structure in hypertension. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 111, n. 3, p. 771–791, 2006.

AZUSHIMA, K. et al. Recent Research Advances in Renin-Angiotensin-Aldosterone System Receptors. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 3, p. 1–10, 2020.

BARRIOS, V.; ESCOBAR, C. Antihypertensive and organ-protective effects of benazepril. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 8, n. 12, p. 1653–1671, 2010.

BESSAGUET, F. et al. The therapeutic potential of renin angiotensin aldosterone system (RAAS) in chronic pain: From preclinical studies to clinical trials. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 16, n. 3, p. 331–339, 2016.

BHANDARI, S. et al. Multicentre randomized controlled trial of angiotensin converting

enzyme inhibitor/angiotensin receptor blocker withdrawal in advanced renal disease: The STOP-ACEi trial. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 31, n. 2, p. 255–261, 2016.

BIRBEN, E. et al. **Oxidative Stress and Antioxidant Defense**. [s.l: s.n.].

BODDI, M. Renal ultrasound (And doppler sonography) in hypertension: An update. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 956, p. 191–208, 2017.

BOHR, D. F.; WEBB, R. C. Vascular smooth muscle function and its changes in hypertension. **American Journal of Medicine**, v. 77, n. 4 A, p. 3–16, 1984.

BRASIL, G. A. et al. The benefits of soluble non-bacterial fraction of kefir on blood pressure and cardiac hypertrophy in hypertensive rats are mediated by an increase in baroreflex sensitivity and decrease in angiotensin-converting enzyme activity. **Nutrition**, v. 51–52, p. 66–72, 2018.

BRASILEIRA, S. Diretriz sobre angina instável e IAM sem supradesnível do segmento ST - SBC. v. 102, 2014.

BRIONES, A. M. et al. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, n. 1, 2006.

BRIONES, A. M.; ARRIBAS, S. M.; SALAICES, M. Role of extracellular matrix in vascular remodeling of hypertension. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 19, n. 2, p. 187–194, 2010.

BRIONES, A. M.; TOUYZ, R. M. Moderate exercise decreases inflammation and oxidative stress in hypertension: But what are the mechanisms? **Hypertension**, v. 54, n. 6, p. 1206–1208, 2009.

CARVALHO, M. H. C. et al. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n. 1, p. 76–88, 2001.

CHRYSANT, S. G. Blood pressure effects of high-dose amlodipinebenazepril combination in black and white hypertensive patients not controlled on monotherapy. **Drugs in R and D**, v. 12, n. 2, p. 57–64, 2012.

CRAVEDI, P.; LEVENTHAL, J. S.; PICCOLI, G. B. Hypertension and glomerular diseases: the importance of a holistic approach. **Journal of Nephrology**, v. 34, n. 4, p. 1053–1055, 2021.

DAHLÖF, B. Left ventricular hypertrophy and angiotensin II antagonists. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 2, p. 174–182, 2001.

DE ALMEIDA, A. A. C. et al. Potential antioxidant and anxiolytic effects of (+)-limonene epoxide in mice after marble-burying test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 118, p. 69–78, 2014.

DEBORTOLI, A. R. et al. GPER modulates tone and coronary vascular reactivity in male and female rats. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 59, n. 2, p. 171–180, 2017.

DEQUATTRO, V. Comparison of benazepril and other antihypertensive agents alone and in combination with the diuretic hydrochlorothiazide. **Clinical Cardiology**, v. 14, n. 4 S, p. 28–32, 1991.

DEROSA, G.; MAFFIOLI, P. Nifedipine and telmisartan for the treatment of hypertension: The TALENT study. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 9, n. 12, p. 1499–1503, 2011.

DUDOIGNON, E.; DÉPRET, F.; LEGRAND, M. Is the Renin-Angiotensin-Aldosterone System Good for the Kidney in Acute Settings? **Nephron**, v. 143, n. 3, p. 179–183, 2019.

DURANTE, A. et al. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 7, p.

981–1004, 2012.

FERREIRO, C. R. et al. Influence of hypoxia on nitric oxide synthase activity and gene expression in children with congenital heart disease: A novel pathophysiological adaptive mechanism. **Circulation**, v. 103, n. 18, p. 2272–2276, 2001.

FONG, P. et al. New England Journal CREST. **Science**, p. 609–619, 2010.

GATHIRAM, P.; MOODLEY, J. The Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Preeclampsia: a Review. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 11, p. 1–9, 2020.

GIESTAS, A.; PALMA, I.; RAMOS, M. H. Sistema renina-angiotensina-aldosterona: E sua modulação farmacológica. **Acta Medica Portuguesa**, v. 23, n. 4, p. 677–688, 2010.

GILES, T. D. Aspectos do Óxido Nítrico na Saúde e Doença: um foco na hipertensão e Doença cardiovascular. v. 8, 2006a.

GILES, T. D. Aspects of nitric oxide in health and disease: a focus on hypertension and cardiovascular disease. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 8, n. 12 Suppl 4, p. 2–16, 2006b.

GOLDBLATT, B. Y. H. et al. Studies on E X P E R I M E N T a L H Y P E R T E N S I O N I . the Production of Persistent Elevation of Systolic Blood Pressure By Means of Renal Ischemia. **J Exp Med**, v. 59, n. 3, p. 347– 79., 1934.

GOMEZ, H. J. Dose-response studies with benazepril in mild to moderate hypertension. **Clinical Cardiology**, v. 14, n. 4 S, p. 22–27, 1991.

GOUVEA, S. A. et al. Activity of angiotensin-converting enzyme after treatment with L-arginine in renovascular hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 26, n. 6, p. 569–579, 2004.

GOUVEA, S. A. et al. Role of renal nerves in the treatment of renovascular hypertensive rats with L -arginine. **International Journal of Hypertension**, v. 2014, 2014.

GOUVÊA, S. A. et al. Oral administration of L-arginine decreases blood pressure and increases renal excretion of sodium and water in renovascular hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 7, p. 943–949, 2003.

GUEUTIN, V.; DERAY, G.; ISNARD-BAGNIS, C. Physiologie rénale. **Bulletin du Cancer**, v. 99, n. 3, p. 237–249, 2012.

GUYTON, A. C. Blood pressure control - Special role of the kidneys and body fluids. **Science**, v. 252, n. 5014, p. 1813–1816, 1991.

HART, P. D.; BAKRIS, G. L. Hypertensive nephropathy: Prevention and treatment recommendations. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 11, n. 16, p. 2675–2686, 2010.

HE, H. et al. Comparison of cardioprotective effects using salvianolic acid B and benazepril for the treatment of chronic myocardial infarction in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 380, n. 1, p. 95–95, 2009.

HERNÁN GÓMEZ LLAMBÍ, H. et al. Left ventricular hypertrophy does not prevent heart failure in experimental hypertension. **International Journal of Cardiology**, v. 238, p. 57–65, 2017.

HIAN, C. K.; LEE, C. L.; THOMAS, W. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Antagonism and Polycystic Kidney Disease Progression. **Nephron**, v. 134, n. 2, p. 59–63, 2016.

HOLAPPA, M.; VAPAATALO, H.; VAAJANEN, A. Local ocular renin–angiotensin–aldosterone system: any connection with intraocular pressure? A comprehensive

review. **Annals of Medicine**, v. 52, n. 5, p. 191–206, 2020.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: Role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants. **Hypertension**, v. 36, n. 3, p. 312–318, 2000.

IRAVANIAN, S.; DUDLEY, S. C. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and cardiac arrhythmias. **Heart Rhythm**, v. 5, n. 6 SUPPL., p. 1–11, 2008.

JIANG, J. et al. REM sleep deprivation induces endothelial dysfunction and hypertension in middle-aged rats: Roles of the eNOS/NO/cGMP pathway and supplementation with L-arginine. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1–9, 2017.

JIANG, S. et al. Elevation in total homocysteine levels in Chinese patients with essential hypertension treated with antihypertensive benazepril. **Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 22, n. 2, p. 191–198, 2016.

KATO, M. et al. Enzymatic reactive oxygen species assay to evaluate phototoxic risk of metabolites. **Toxicology Letters**, v. 278, p. 59–65, 2017.

KEREIAKES, D. J. et al. Efficacy and safety of olmesartan medoxomil and hydrochlorothiazide compared with benazepril and amlodipine besylate. **American Journal of Cardiovascular Drugs**, v. 7, n. 5, p. 361–372, 2007.

KHALAF, D. et al. The effects of oral L-arginine and L-citrulline supplementation on blood pressure. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1–14, 2019.

KIHM, L. Hypertension and Diabetic Nephropathy. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 124, n. 6, p. 333–334, 2016.

KIM, K. et al. Current findings of kidney biopsy including nephropathy associated with hypertension and diabetes mellitus in Korea. **Korean Journal of Internal Medicine**, v. 35, n. 5, p. 1173–1187, 2020.



KOSTIS, W. J. et al. ACE Inhibitor-Induced Angioedema: a Review. **Current Hypertension Reports**, v. 20, n. 7, p. 1–7, 2017.

KUNSCH, C.; MEDFORD, R. M. **Oxidative Stress as a Regulator of Gene Expression in the Vasculature**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.circresaha.org>>.

KUSCHNIR, E. et al. Treatment of patients with essential hypertension: Amlodipine 5 mg/benazepril 20 mg compared with amlodipine 5 mg, benazepril 20 mg, and placebo. **Clinical Therapeutics**, v. 18, n. 6, p. 1213–1224, 1996.

LAZZERONI, D.; RIMOLDI, O.; CAMICI, P. G. From left ventricular hypertrophy to dysfunction and failure. **Circulation Journal**, v. 80, n. 3, p. 555–564, 2016.

LEAL, A. K.; MITCHELL, J. H.; SMITH, S. A. Treatment of muscle mechanoreflex dysfunction in hypertension: Effects of L-arginine dialysis in the nucleus tractus solitarii. **Experimental Physiology**, v. 98, n. 9, p. 1337–1348, 2013.

LEE, K. Y.; CHOI, H. C. Acetylcholine-induced AMP-activated protein kinase activation attenuates vasoconstriction through an LKB1-dependent mechanism in rat aorta. **Vascular Pharmacology**, v. 59, n. 3–4, p. 96–102, 2013.

LI, H. et al. Combination of leflunomide and benazepril reduces renal injury of diabetic nephropathy rats and inhibits high-glucose induced cell apoptosis through regulation of NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$  and TRPC6. **Renal Failure**, v. 41, n. 1, p. 899–906, 2019.

LI, J. et al. Metformin improves cardiac metabolism and function, and prevents left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. **Journal of the American Heart Association**, v. 9, n. 7, p. 1–6, 2020a.

LI, Y. et al. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) Is One of the Effectors by Which Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)/Anti-VEGF Controls

the Endothelial Cell Barrier. **American Journal of Pathology**, v. 190, n. 9, p. 1971–1981, 2020b.

LIGGETT. 基因的改变 NIH Public Access. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2014.

LOVIC, D. et al. Left ventricular hypertrophy in athletes and hypertensive patients. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 19, n. 4, p. 413–417, 2017.

LUND-JOHANSEN, P. Hemodynamic response: Decrease in cardiac output vs reduction in vascular resistance. **Hypertension**, v. 5, n. 5, p. III-49- III–57, 1983.

MACNAB, M.; MALLOWES, S. Safety profile of benazepril in essential hypertension. **Clinical Cardiology**, v. 14, n. 4 S, p. 33–37, 1991.

MALACHIAS, M. et al. Capítulo 14 – Crise Hipertensiva. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, 2016.

MARÍN, J.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, M. A. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 75, n. 2, p. 111–134, 1997.

MARTINEZ-ARROYO, O. et al. Therapeutic Potential of Extracellular Vesicles in Hypertension-Associated Kidney Disease. **Hypertension**, n. January, p. 28–38, 2020.

MARTINEZ-LEMUS, L. A.; HILL, M. A.; MEININGER, G. A. The plastic nature of the vascular wall: A continuum of remodeling events contributing to control of arteriolar diameter and structure. **Physiology**, v. 24, n. 1, p. 45–57, 2009.

MENGAL, V. et al. Aliskiren and l-arginine treatments restore depressed baroreflex sensitivity and decrease oxidative stress in renovascular hypertension rats. **Hypertension Research**, v. 39, n. 11, p. 769–776, 2016.

MENNUNI, S. et al. Hypertension and kidneys: Unraveling complex molecular

mechanisms underlying hypertensive renal damage. **Journal of Human Hypertension**, v. 28, n. 2, p. 74–79, 2014.

MILL, J. G. et al. Remodeling in the ischemic heart: The stepwise progression for heart failure. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 9, p. 890–898, 2011.

MONTINARO, V.; CICARDI, M. ACE inhibitor-mediated angioedema. **International Immunopharmacology**, v. 78, n. November 2019, p. 106081, 2020.

MULVANY, M. J. Small artery remodelling in hypertension: Causes, consequences and therapeutic implications. **Medical and Biological Engineering and Computing**, v. 46, n. 5, p. 461–467, 2008.

OHSAWA, M. et al. Addition of aliskiren to angiotensin receptor blocker improves ambulatory blood pressure profile and cardiorenal function better than addition of benazepril in chronic kidney disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 8, p. 15361–15375, 2013.

OPARIL, S.; SCHMIEDER, R. E. New Approaches in the Treatment of Hypertension. **Circulation Research**, v. 116, n. 6, p. 1074–1095, 2015.

ORDOG, K. et al. Mitochondrial protective effects of PARP-inhibition in hypertension-induced myocardial remodeling and in stressed cardiomyocytes. **Life Sciences**, v. 268, p. 118936, 2021.

PALMER, B. F. Potassium Binders for Hyperkalemia in Chronic Kidney Disease—Diet, Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitor Therapy, and Hemodialysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 95, n. 2, p. 339–354, 2020.

PARAVICINI, T. M.; TOUYZ, R. M. **NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities.** *Diabetes care*, 2008.

PASHLEY, S. Wallace MA. Anatomy and physiology of the kidney. AORN journal. 1998 Nov 1;68(5):799-820. v. 68, n. 5, 1999.

PELUFFO, R. D. L-Arginine currents in rat cardiac ventricular myocytes. **Journal of Physiology**, v. 580, n. 3, p. 925–936, 2007.

PIZZINO, G. et al. **Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health****Oxidative Medicine and Cellular Longevity**Hindawi Limited, , 2017.

RAJAPAKSE, N. W. et al. Exogenous L-arginine ameliorates angiotensin II-induced hypertension and renal damage in rats. **Hypertension**, v. 52, n. 6, p. 1084–1090, 2008.

REYES, D. R. A. et al. Exercise during transition from compensated left ventricular hypertrophy to heart failure in aortic stenosis rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 23, n. 2, p. 1235–1245, 2019.

RONCHI, S. N. et al. Low and high doses of oxandrolone promote pathological cardiac remodeling in young male rats. **Steroids**, v. 170, n. February, 2021.

RUGGENENTI, P. et al. Effects of valsartan, benazepril and their combination in overt nephropathy of type 2 diabetes: A prospective, randomized, controlled trial. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 21, n. 5, p. 1177–1190, 2019.

RUGGENENTI, P. et al. Preventing microalbuminuria with benazepril, valsartan, and benazepril-valsartan combination therapy in diabetic patients with high-normal albuminuria: A prospective, randomized, open-label, blinded endpoint (PROBE) study. **PLoS Medicine**, v. 18, n. 7, p. 1–21, 2021.

RUILOPE, L. M.; SCHMIEDER, R. E. Left ventricular hypertrophy and clinical outcomes in hypertensive patients. **American Journal of Hypertension**, v. 21, n. 5, p. 500–508, 2008.

RUZICKA, M. et al. Treatment of hypertension in patients with nondiabetic chronic

kidney disease. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 23, n. 7, p. 595–601, 2007.

RYODEN, Y. et al. Functional Expression of the P2X7 ATP Receptor Requires Eros. **The Journal of Immunology**, v. 204, n. 3, p. 559–568, 2020.

SANTUZZI, C. H. et al. Combined aliskiren and L-arginine treatment has antihypertensive effects and prevents vascular endothelial dysfunction in a model of renovascular hypertension. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 1, p. 65–76, 2015.

SEGAWA, Y. et al. Dietary capsaicin-mediated attenuation of hypertension in a rat model of renovascular hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 42, n. 4, p. 352–359, 2020.

SENONER, T.; DICHTL, W. **Oxidative stress in cardiovascular diseases: Still a therapeutic target?** *Nutrients* MDPI AG, , 1 set. 2019.

SENT, U. et al. Comparison of Efficacy of Long-term Oral Treatment with Telmisartan and Benazepril in Cats with Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 6, p. 1479–1487, 2015.

SHUKLA, A. K.; BANERJEE, M. Angiotensin-Converting-Enzyme 2 and Renin-Angiotensin System Inhibitors in COVID-19: An Update. **High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention**, v. 28, n. 2, p. 129–139, 2021.

SILBERMAN, G. A. et al. Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction. **Circulation**, v. 121, n. 4, p. 519–528, fev. 2010.

STEFANI, G. P. et al. Resistance training and L-arginine supplementation are determinant in genomic stability, cardiac contractility and muscle mass development in rats. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. 1–15, 2018.

STEINBERG, S. F. **Oxidative stress and sarcomeric proteins** *Circulation Research*, 18 jan. 2013.

STOMPÓR, T.; NAPORA, M.; OLSZEWSKI, A. Renoprotective effects of benazepril: Current perspective. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 9, n. 6, p. 663–673, 2011.

SUNEJA, M.; SANDERS, M. L. Hypertensive Emergency. **Medical Clinics of North America**, v. 101, n. 3, p. 465–478, 2017.

TANG, E. H. C.; VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction: A strategic target in the treatment of hypertension? **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 459, n. 6, p. 995–1004, 2010.

TIRADENTES, R. V. et al. Combined Aliskiren and L-arginine treatment reverses renovascular hypertension in an animal model. **Hypertension Research**, v. 38, n. 7, p. 471–477, 2015.

TSCHUDI, M. R. et al. Antihypertensive therapy augments endothelium-dependent relaxations in coronary arteries of spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, v. 89, n. 5, p. 2212–2218, 1994a.

TSCHUDI, M. R. et al. Antihypertensive therapy augments endothelium-dependent relaxations in coronary arteries of spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, v. 89, n. 5, p. 2212–2218, 1994b.

TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 301, p. 2181–2190, 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

WANG, X. et al. Diverse effects of L-arginine on cardiac function of rats subjected to myocardial ischemia and reperfusion in vivo. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 39, n. 3, p. 201–207, 2007.

YAN, S. H. et al. Benazepril inhibited the NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$  networking on LV hypertrophy in rats. **Immunology Letters**, v. 152, n. 2, p. 126–134, 2013.

YILDIZ, M. et al. Left ventricular hypertrophy and hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 63, n. 1, p. 10–21, 2020.

ZARBOCK, A.; CHAWLA, L.; BELLOMO, R. Why the renin–angiotensin–aldosterone system (RAAS) in critically ill patients can no longer be ignored. **Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 1–3, 2021.

ZHENG, M. H. et al. The Interplay Between the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Parathyroid Hormone. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, n. August, p. 1–12, 2020.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

Ata da 207ª sessão de Defesa da Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, do discente Otávio Lélío de Jesus da Silva, realizada às 09:30h do dia vinte e seis de agosto do ano dois mil e vinte e dois, no auditório do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Dissertação intitulada “EFEITOS DO TRATAMENTO COM L-ARGININA E BENAZEPRIL ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO SOBRE MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR”. A sessão pública foi realizada em formato híbrido, com apresentação presencial e transmissão externa por meio de videoconferência (<https://meet.google.com/dfn-aozp-mnb> ou disque: (US) +1 818-921-4878 PIN: 728 993 536#), conforme autorização da Portaria Normativa 08/2021 da PRPPG que estabelece as diretrizes básicas para a realização de defesas por meio de videoconferência em atendimento à Resolução do Conselho Universitário no 31/2021 que regulamenta a reorganização das atividades acadêmicas, administrativas e eventos no âmbito da UFES como medida de prevenção à COVID-19. A presidente da Banca, Profª Drª Sonia Alves Gouvea (orientadora), apresentou os demais membros da comissão examinadora constituída pelos Doutores: Profª. Profª Drª Gláucia Rodrigues de Abreu, Universidade Federal do Espírito Santo, como membro titular interno; Prof. Dr. Patrick Wander Endlich, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucurí, como titular externo, e passou a palavra para a aluna que apresentou a sua proposta de dissertação. Terminada a apresentação, a banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar o mestrando APROVADO na defesa de Mestrado. Eu, Sonia Alves Gouvea, que presidi a Banca de qualificação, assino a presente Ata, juntamente com os demais membros e dou fé. Vitória, 26 de agosto de 2022.

---

Profª Drª Sonia Alves Gouvea  
Universidade Federal do Espírito Santo – Orientadora

---

Profª Drª Gláucia Rodrigues de Abreu  
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular interno

---

Prof. Dr. Patrick Wander Endlich,  
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucurí – Titular Externo

Documento assinado digitalmente



PATRICK WANDER ENDLICH  
Data: 19/09/2022 17:00:53-0300  
Verifique em <https://verificador.itl.br>



Campus Universitário Maruípe – Av. Maruípe, 1468 – Maruípe, Vitória – ES | 29047-185 |  
Tel. e Fax: (27) 3335-9501 | <http://www.biotecnologia.ufes.br/> | [pgbiotecnologia@gmail.com](mailto:pgbiotecnologia@gmail.com)





UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
SONIA ALVES GOUVEA - SIAPE 1671557  
Departamento de Ciências Fisiológicas - DCFI/CCS  
Em 19/09/2022 às 15:49

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/563664?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
GLAUCIA RODRIGUES DE ABREU - SIAPE 1172974  
Departamento de Ciências Fisiológicas - DCFI/CCS  
Em 20/09/2022 às 08:48

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/564108?tipoArquivo=O>