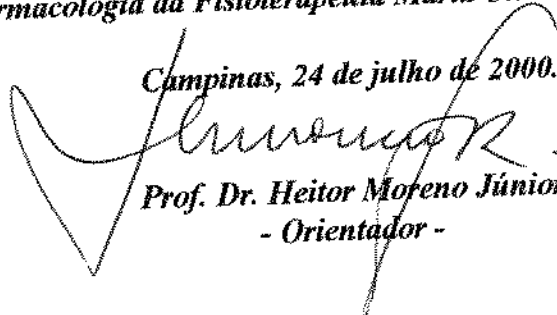


UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia da Fisioterapeuta Maria Ondina Paganelli.

Campinas, 24 de julho de 2000.


Prof. Dr. Heitor Mofeno Júnior
- Orientador -

MARIA ONDINA PAGANELLI

**EFEITO AGUDO DA NICOTINA NA RESPOSTA
HIPOTENSORA INDUZIDA PELA BRADICININA**

Campinas

2000

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

MARIA ONDINA PAGANELLI

***EFEITO AGUDO DA NICOTINA NA RESPOSTA
HIPOTENSORA INDUZIDA PELA BRADICININA***

*Dissertação de Mestrado apresentado ao Curso
de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Mestre em
Farmacologia.*

Orientador: Dr. Heitor Moreno Júnior

Campinas

2000

UNIDADE BC
 N.º CHAMADA:
T/UNICAMP
P14e
 V. Ex.
 TOMBO B0143605
 PROC. 16-392/07
 C ☐ D ☒
 PREC. R\$ 11,00
 DATA 07/02/07
 N.º CPD

CM-00153189-1

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
 UNICAMP**

P14e

Paganelli, Maria Ondina

Efeito agudo da nicotina na resposta hipotensora induzida pela
 bradicinina / Maria Ondina Paganelli. Campinas, SP : [s.n.], 2000.

Orientador : Heitor Moreno Júnior

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
 Ciências Médicas.

1. Sistema renina - angiotensina. 2. Pressão arterial. 3. Ratos. I.
 Heitor Moreno Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Heitor Moreno Júnior

Membros:

1. Prof. Dr. Heitor Moreno Júnior

2. Prof. Dr. Edson Antunes

3. Prof. Dr. Edanir dos Santos

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 24/07/2000

UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL

SÉCÃO CIRCUNSCRIÇÃO

DEDICATÓRIA

À minha filha Laís,

Pelo seu sorriso, e pela alegria de estarmos sempre juntas.

Te amo muito filha

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Neuza e William e

Ao meu irmão William Filho,

Obrigada pelo amor e carinho.

Sem vocês não faria nenhum sentido.

Ao Chaud,

Pelo seu amor, dedicação, alegria e companheirismo.

Você faz parte da minha "Lenda Pessoal".

À Luíza e Laura,

Pela alegria e carinho que vocês transmitem.

Ao Prof. Dr. Heitor Moreno Júnior,

Um agradecimento especial, àquele que pela sua sabedoria teve talento para transmitir seus ensinamentos e experiências.

Sua orientação, apoio, solidariedade e confiança foram o estímulo para a concretização desta conquista.

Meu muito Obrigado.

Ao José Eduardo, pela dedicação, amizade, confiança e apoio incondicional.

À Viviam, pela amizade, pelo apoio e companheirismo tão importantes para a realização deste trabalho.

Ao Joaquim, pelo apoio técnico e amizade.

Ao Prof. Dr. Edson Antunes e Prof. Dr. Kleber, por cederem gentilmente aparelhos e instalações para a concretização deste trabalho.

À Dra. Gun, pelo apoio, confiança e amizade.

Ao Prof. Dr. Stephen Hyslop, pela atenção e importante assessoria na revisão do trabalho.

A todos os alunos do Curso de Pós-Graduação e aos funcionários do Departamento de Farmacologia, pela convivência respeitosa que tivemos.

Aos amigos Maricene, Rita, Máira, Juan e Wladimir, obrigada pelo companheirismo, carinho e amizade.

A todos os amigos do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular obrigada pelo apoio e amizade.

A todos os docentes do Departamento de Farmacologia que contribuíram com o meu crescimento profissional e pessoal.

Em especial, ao amigo Luiz Madaleno Franco, pela lealdade, confiança e apoio incondicional.

À Yoko, por sua amizade e companheirismo.

À Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional da Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, pelos serviços prestados.

À FAPESP e à UNIMEP pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS.....	<i>i</i>
LISTA DE MATERIAIS	<i>ii</i>
LISTA DE FIGURAS.....	<i>iii</i>
LISTA DE TABELAS.....	<i>v</i>
RESUMO.....	<i>vii</i>
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Tabagismo e doenças cardiovasculares.....	2
1.2. Regulação da pressão arterial.....	4
1.2.1. Mecanismos de ação rápida.....	4
1.2.2. Mecanismos a longo prazo para a regulação da pressão arterial.....	4
1.2.3. Regulação humoral da circulação.....	5
1.3. O endotélio como modulador de respostas vasomotoras.....	5
1.3.1. Óxido nítrico.....	6
1.3.2. Bradicinina.....	7
1.4. Efeitos sistêmicos agudos da nicotina.....	8
1.5. Nicotina e disfunção endotelial.....	9
1.6. Sistema renina-angiotensina-aldosterona e antagonistas de receptores AT ₁	9

4.2.1.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.....	23
4.2.2. Curva dose-resposta à BK no grupo ENALAPRIL	24
4.2.2.1. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de salina.....	24
4.2.2.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.....	25
4.2.3. Curva dose-resposta à BK do grupo LOSARTAN	26
4.2.3.1. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de salina.....	26
4.2.3.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.....	27
4.3. Análise dos valores de E_{max} , ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$	28
4.3.1. Grupo CONTROLE	28
4.3.2. Grupo ENALAPRIL	30
4.3.3. Grupo LOSARTAN.....	32
5. DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÃO.....	39
7. SUMMARY.....	41
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
9. ANEXOS.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

ΔPAM	Variação da pressão arterial média
ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
BK	Bradicinina
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ED₅₀	Dose que causa 50% do efeito máximo
E_{max}	Efeito máximo
EPM	Erro padrão da média
FRDE	Fator de relaxamento derivado do endotélio
GC	Grupo controle
GE	Grupo enalapril
GL	Grupo losartan
GMPc	Monofosfato de guanosina cíclico
NO	Óxido nítrico
PAC	Pressão arterial de cauda
PAM	Pressão arterial média
PCorp	Peso corporal
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona

LISTA DE MATERIAIS

Substância	Procedência
▪ Maleato de enalapril	Biosintética, São Paulo, SP, Brasil
▪ Nicotina intravenosa	Sigma, St Louis, MO, USA
▪ Bradicinina	Sigma, St Louis, MO, USA
▪ Losartan	Biosintética, São Paulo, SP, Brasil
▪ Pentobarbital sódico	Sigma, St Louis, MO, USA

	Pág.
Figura 1: Curva dos valores, média±erro-padrão do peso corporal, dos grupos experimentais durante as 3 semanas de estudo.....	20
Figura 2: Curva dos valores da pressão arterial de cauda, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), dos grupos experimentais durante as 3 semanas de estudo.....	21
Figura 3: Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração de salina no grupo CONTROLE	22
Figura 4: Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração, em bolo, de nicotina no Grupo CONTROLE	23
Figura 5: Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração, em bolo, de salina no Grupo ENALAPRIL	24
Figura 6: Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração, em bolo, de nicotina no Grupo ENALAPRIL	25
Figura 7: Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração, em bolo, de salina no Grupo LOSARTAN	26

Figura 8:	Curva dose-resposta à bradicinina da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração, em bolo, de nicotina no Grupo LOSARTAN	27
Figura 9:	Valores da média±erro-padrão da média de E_{max} da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo CONTROLE	28
Figura 10:	Valores da média±erro-padrão da média de ED_{50} , expresso em $\mu\text{g/kg}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo CONTROLE	29
Figura 11:	Valores da média±erro-padrão da média de E_{max} da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo ENALAPRIL	30
Figura 12:	Valores da média±erro-padrão da média de ED_{50} , expresso em $\mu\text{g/kg}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo ENALAPRIL	31
Figura 13:	Valores da média±erro-padrão da média de E_{max} da PAM, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo LOSARTAN.....	32
Figura 14:	Valores da média±erro-padrão da média de ED_{50} , expresso em $\mu\text{g/kg}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo LOSARTAN	33

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1: Valores média±erro-padrão de E_{max} , ED_{50} e $\log ED_{50}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no grupo CONTROLE.....	29
Tabela 2: Valores média±erro-padrão de E_{max} , ED_{50} e $\log ED_{50}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no grupo ENALAPRIL.....	31
Tabela 3: Valores média±erro-padrão de E_{max} , ED_{50} e $\log ED_{50}$, antes e após a administração de salina ou nicotina no grupo LOSARTAN.....	33

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar se a administração aguda de nicotina altera a resposta hipotensora da bradicinina em ratos Wistar e investigar a participação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona nesta resposta.

Curvas doses respostas à bradicinina (0,1; 0,4; 1,6; 6,3; 25 e 100µg/kg, em bolo) foram realizadas antes e após a administração de salina ou nicotina (200µg/kg, em bolo), avaliando-se a pressão arterial média. As curvas dose-resposta à bradicinina individuais gerada em cada experimento foram ajustadas para equação logística usando o programa ALLFIT. Este programa fornece uma estimativa da resposta máxima (E_{max}) e da dose produzindo 50% do efeito máximo (ED_{50}). Ratos foram pré-tratados oralmente com enalapril (25mg/kg/dia) ou losartan (10mg/kg/dia) por duas semanas. Após o pré-tratamento, os ratos foram avaliados conforme descrito acima.

A bradicinina produziu resposta hipotensora dose dependente a qual não foi afetada após administração de salina. A administração de nicotina reduziu o E_{max} (de $-73 \pm 2,1$ para $-66 \pm 1,0$ mmHg; $p < 0,05$), mas não alterou o ED_{50} . O prévio tratamento oral com losartan ou enalapril não atenuou a resposta à bradicinina observado após a administração de nicotina. A nicotina reduziu o E_{max} em ambos os grupos (de $-68 \pm 2,3$ para $-63 \pm 1,0$ mmHg e de $-58 \pm 2,8$ para $-43 \pm 2,3$ mmHg, respectivamente; $p < 0,05$), sem alterações significativas de ED_{50} , porém houve desvio à esquerda da curva dose-resposta à BK no grupo enalapril. Assim, estes resultados sugerem que a administração aguda de nicotina pode comprometer a resposta hipotensora induzida pela bradicinina, isto é, dependente do endotélio. E este efeito agudo da nicotina não é influenciado pela inibição da enzima conversora de angiotensina ou pelo antagonista de receptor AT_1 .

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

1. INTRODUÇÃO

1.1. TABAGISMO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Entre os mais importantes fatores de risco no desenvolvimento de doenças cardiovasculares destacamos o tabagismo (HAMMOND & HORN, 1958; JONAS *et al.*, 1992; LAKIER, 1992). A relação entre o tabagismo e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares é demonstrada pelo aumento do índice de mortalidade em fumantes saudáveis (LAKIER, 1992).

Adicionalmente, o tabagismo exerce efeitos deletérios através de mecanismos não totalmente esclarecidos, porém, interativos. Por outro lado a interrupção do hábito de fumar reduz o risco de doenças cardiovasculares (JONAS *et al.*, 1992).

O estudo experimental de HIGMAN *et al.*, (1993) mostrou que os anéis de veia safena de fumantes e não fumantes apresentavam igual relaxamento na presença de nitroprussiato de sódio e que em fumantes havia comprometimento da resposta à bradicinina (BK), devido a diminuição da liberação do fator de relaxamento derivado do endotélio (FRDE) e conseqüente aumento do tônus vasomotor. Também, estudos em humanos, mostraram que 24 horas após a interrupção do ato de fumar, há completa recuperação da venodilatação induzida por BK, um vasodilatador endotélio dependente, em fumantes crônicos (MORENO *et al.*, 1998).

É possível que os efeitos deletérios do ato de fumar possam ser mediados pelo aumento do estresse oxidativo (HEITZER *et al.*, 1996a). Os radicais livres gerados pelo fumo podem acelerar a peroxidação lipídica e assim aumentar a oxidação da lipoproteína de baixa densidade, transformando-a em lipoproteína de baixa densidade oxidada, um conhecido inibidor da vasodilatação dependente do endotélio (FLAVAHAN, 1992).

Fumantes apresentam alterações do perfil lipídico caracterizados por diminuição da lipoproteína de alta densidade, aumento da lipoproteína de baixa densidade, prontamente transformada em lipoproteína de baixa densidade oxidada e de triglicérides, potencializando a predisposição para doença cardiovascular aterosclerótica (BENOWITZ & GOURLAY, 1997).

O tabagismo interfere nos mecanismos hemostáticos (HEITZER, *et al.*, 1996b), induzindo alterações dos níveis plasmáticos de fibrinogênio e do número de glóbulos vermelhos com aumento da viscosidade sanguínea e da agregação plaquetária (BENOWITZ & GOURLAY, 1997), um efeito mediado pela nicotina que tende a aumentar a adesão plaquetária à parede do vaso. (LASSILA *et al.*, 1988).

Podemos considerar também que a exposição à fumaça do cigarro altera componentes hormonais, bioquímicos e neurais envolvidos na regulação da pressão arterial (BENNETT & RICHARDSON, 1990). As alterações que acompanham o ato de fumar por um curto período de tempo incluem, aumento da frequência cardíaca e pressão arterial, vasoconstrição cutânea e aumento do fluxo sanguíneo muscular (BENOWITZ, 1988).

O endotélio vascular desempenha um importante papel na manutenção da vasodilatação através da liberação de óxido nítrico (NO). Vários estudos demonstraram anormalidades na função endotelial em artérias coronárias de tabagistas com aterosclerose (ANDERSON *et al.*, 1995). O tabagismo lesa a parede do vaso por danificar as células endoteliais (KRUPSKI, 1991), e também reduz a concentração de NO endógeno (HILL *et al.*, 1995). Estas alterações afetariam o sistema cardiovascular via alteração do sistema NO (LAKIER, 1992).

Embora, a fumaça do cigarro contenha mais de 4.000 componentes, a maioria das investigações se restringem ao estudo do papel da nicotina no comprometimento do endotélio, resultando em lesão aterogênica (KRUPSKI, 1991). O ato de fumar ou a administração de nicotina por longo período causa disfunção endotelial, caracterizada por aumento do número de células endoteliais em circulação, secundária à descamação (DAVIS *et al.*, 1989; LIN *et al.*, 1992) e de alterações da permeabilidade endotelial liberando fatores de crescimento que estimulam a proliferação de células musculares lisas e formação da placa ateromatosa (HOLDEN *et al.*, 1989).

Assim, é bem conhecido que o tabagismo acelera a aterosclerose e aumenta o risco de doenças cardiovasculares e morte súbita (JOSEPH *et al.*, 1996; LAKIER, 1992). Embora não esteja claro quais componentes da fumaça do cigarro contribuam para a patogênese de doenças cardiovasculares, aparentemente, a nicotina tem papel importante

porque compromete a vasodilatação dependente do endotélio (MAYHAN & PATEL, 1997), e estimula a produção de fatores de crescimento que podem contribuir para a disfunção endotelial induzida pelo tabaco (MORENO *et al.*, 1998; CHALON *et al.*, 1999), e aterosclerose (JONAS *et al.*, 1992).

1.2. REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A pressão arterial média é definida como valor médio pelo tempo da pressão arterial sanguínea durante um ciclo cardíaco.

Existem dois sistemas de controle da pressão arterial, o primeiro, um sistema de mecanismos de ação rápida e o segundo, um sistema de controle a longo prazo.

1.2.1. Mecanismos de ação rápida

Três diferentes mecanismos de controle de pressão arterial começam a atuar em segundos, são eles: mecanismo de feedback barorreceptor de alta pressão, mediada pelos barorreceptores do arco aórtico e carótidas; de baixa pressão, atuando sobre barorreceptores do átrio direito e ventrículo esquerdo e o mecanismo dos quimiorreceptores do seio carotídeo. Dessa forma, a primeira linha de defesa contra pressões anormais é formada pelos mecanismos neurais para controle da pressão arterial.

Esses três mecanismos estão totalmente ativos dentro de 30 minutos a algumas horas; os mecanismos dos barorreceptores que começam a atuar em segundos, estão ativos após cerca de um minuto.

1.2.2. Mecanismos a longo prazo

Os reguladores nervosos da pressão arterial, embora ajam com muita rapidez e eficácia para corrigir anormalidades agudas da pressão arterial, em geral perdem sua força

em controlar a pressão arterial após algumas horas ou dias, porque os receptores de pressão perdem o poder de resposta devido a capacidade de adaptação. Portanto, os mecanismos nervosos para controle de pressão arterial não desempenham papel importante na regulação a longo prazo. Em seguida, após poucos minutos, outros mecanismos de controle da pressão arterial começam a atuar, através do mecanismo vasoconstritor renina-angiotensina, promovendo desvio de líquido dos tecidos para os capilares, entrando ou saindo da circulação, para ajustar o volume sanguíneo conforme for necessário. O mecanismo de regulação a longo prazo depende do controle do volume sanguíneo, com conseqüentes efeitos sobre a pressão arterial. Parcialmente dependente da função renal e dos ajustes efetuados por diversos sistemas hormonais, especialmente o sistema renina-angiotensina e o hormônio aldosterona, secretado pelo córtex da supra-renal.

1.2.3. Regulação humoral da circulação

A regulação humoral da circulação é feita através de substâncias presentes nos líquidos orgânicos, como hormônios, íons, etc.. Entre os fatores humorais mais importantes devem ser destacados os seguintes:

- agentes vasoconstritores (noradrenalina e adrenalina; angiotensina e vasopressina),
- agentes vasodilatadores (bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandina),
- efeitos de diversos íons e de outros fatores químicos no controle vascular (íon cálcio causa vasoconstrição, íon potássio, íon magnésio causam vasodilatação).

1.3. O ENDOTÉLIO COMO MODULADOR DE RESPOSTAS VASOMOTORAS

O conjunto das células endoteliais, o sistema endotelial, pode ser encarado como um órgão endócrino e metabólico altamente ativo com várias atividades biológicas. Interface entre o sangue e o meio extravascular, além da função de barreira seletivamente permeável, o endotélio desempenha várias funções regulatórias, entre as quais incluem-se a regulação vasomotora e vice-versa (BATLOUNI & RAMIRES, 1994). Neste sentido, o endotélio vascular tem importante papel na regulação do tônus vascular por liberar substâncias vasodilatadoras (FRDEs e prostaciclina), vasoconstritoras (tromboxano A_2 , radicais livre e endotelina) (VANE *et al.*, 1990) e contém enzimas que podem ativar a enzima conversora de angiotensina (CALDWELL *et al.*, 1976). A síntese e a liberação de FRDEs, em resposta a aumentos de fluxo e de pressão pulsátil, assim como a estímulos pela acetilcolina, BK, histamina, difosfato de adenosina, e outros, evidenciam que o endotélio pode ser apresentado como um órgão transdutor de variações de estímulos mecânicos e químicos da corrente sanguínea (FURCHGOTT, 1984; HENDERSON, 1991).

1.3.1. Óxido nítrico

O óxido nítrico é um dos mais potentes vasodilatadores endógenos conhecidos. Além de vasodilatador também inibe a adesão e agregação plaquetária, reduz a adesão de leucócitos no endotélio e suprime a proliferação das células do músculo liso vascular (COOKE & DZAU, 1997).

É sintetizado nas células endoteliais a partir da L-arginina, reação mediada pela NO sintase Ca^{2+} dependente, com formação simultânea de L-citrulina (PALMER *et al.*, 1988). O NO causa relaxamento da musculatura lisa vascular, estimulando a guanilato ciclase solúvel, com o conseqüente aumento dos níveis intracelulares do monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) e ativação da proteína quinase dependente do GMPc (RAPAPORT *et al.*, 1983; FORSTERMANN *et al.*, 1986). A elevação do GMPc reduz o influxo de Ca^{2+} através do sarcolema, bem como a liberação de Ca^{2+} de seus depósitos intracelulares, aumentando o seqüestro do íon.

O óxido nítrico é liberado em condições basais pelas células endoteliais, mantendo a vasculatura em estado de dilatação e através de estimulação. Uma grande variedade de estímulos fisiológicos e substâncias vasoativas podem provocar a liberação de NO. Entre os primeiros, incluem-se as alterações do fluxo sanguíneo, do estresse parietal e da tensão de oxigênio. Entre as diversas substâncias que induzem à liberação de NO incluem-se neurotransmissores e hormônios (acetilcolina, noradrenalina e vasopressina), mediadores locais (bradicinina, histamina e substância P) e compostos liberados ou gerados durante a agregação plaquetária e formação do trombo (difosfato de adenosina, serotonina e trombina) (VANE *et al.*, 1990).

1.3.2. Bradicinina

A bradicinina (BK) é um nonapeptídeo formado do precursor bradicininogênio através da enzima calicreína e degradada pelas enzimas proteolíticas cininases I e II (REGOLI & BARABE, 1980; VALLATON, 1987). VAN DEN BUUSE & KERKHOFF (1991) mostraram que a enzima conversora de angiotensina (ECA) desempenha papel importante na inativação da BK circulante em ratos normotensos e hipertensos, e que a BK pode influenciar na atividade do sistema renina-angiotensina, provavelmente por interagir com a ECA.

Sua ação é curta, visto que a BK é rapidamente metabolizada pela cininase II (idêntica à ECA), indicando uma sobreposição na regulação do sistema renina-angiotensina e bradicinina-calicreína.

Os inibidores da ECA podem reduzir a degradação da BK, e inibir a formação do vasoconstritor ANG II (PONTEIRI *et al.*, 1990; SHARMA, 1990). A BK desempenha papel importante na regulação cardiovascular, não somente através de seu efeito vasodilatador direto, mas também pela interação com outros mecanismos reguladores, tal como o sistema renina-angiotensina. A BK exerce ação vasodilatadora estimulando receptores de cininas do Tipo B₂ encontrados nas células endoteliais, causando desta forma

a liberação de vasodilatadores como NO, PGI₂ (prostaciclina) e Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio, levando a uma redução na pressão arterial (LINZ *et al.*, 1999).

1.4. EFEITOS SISTÊMICOS AGUDOS DA NICOTINA

A nicotina liga-se a receptores colinérgicos nicotínicos, os quais estão localizados no cérebro, gânglios autônomos, junção neuromuscular e adrenais (BENOWITZ, 1988). O principal efeito cardiovascular da nicotina é a estimulação neural simpática. Os efeitos simpatomiméticos são mediados por vários mecanismos. Quando mediada pelo sistema nervoso central, a ativação pode ocorrer através de quimiorreceptores periféricos, efeitos diretos sobre o cérebro e sobre a porção caudal da medula espinhal. O quimiorreceptor da carótida parece ser o local de ação mais sensível a baixos níveis de nicotina.

A nicotina absorvida durante o ato de fumar causa liberação de catecolaminas da medula adrenal, gânglios simpático e nervos afim, tecido cromafim no coração, resultando em aumento da frequência cardíaca e pressão sanguínea sistólica (SU, 1982). Assim, o ato de fumar pode ser considerado como um estado hiperadrenérgico repetitivo e exagerado. Além disso, a nicotina induz a vasoconstrição cutânea, aumento da temperatura na pele, venoconstrição sistêmica e aumento do fluxo sanguíneo muscular (KRUPSKI, 1991).

Fumar cigarros produz direta e indiretamente alterações metabólicas e bioquímicas. A liberação de catecolaminas provocada pela nicotina induz a lipólise, resultando em elevados níveis plasmáticos de ácido graxo livre (BENOWITZ & GOURLAY, 1997).

A nicotina também aumenta os níveis sanguíneos de vasopressina, hormônio adrenocorticotrófico e gastrina (ROBERTSON *et al.*, 1988). A vasopressina, além de reduzir o fluxo sanguíneo da pele contribui para o aumento da agregação plaquetária, deste modo aumentando a propensão de trombose (ERNE *et al.*, 1986).

1.5. NICOTINA E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A nicotina trabalha primeiramente por aumentar a liberação de vários neurotransmissores, incluindo adrenalina, noradrenalina, dopamina, acetilcolina, serotonina, vasopressina (OKAMURA & NOBORU, 1994). A produção de prostaciclina, um potente vasodilatador e inibidor de agregação plaquetária, também é inibida pela nicotina (REINDERS *et al.*, 1986).

Os efeitos hemodinâmicos do tabagismo parecem estar mediados pela nicotina. Nicotina administrada por via nasal (spray), oral (goma de mascar) e intravenosa aumentam agudamente a frequência cardíaca, acima de 10 a 15 batimentos/minuto e aumenta a pressão sanguínea acima de 5 a 10 mmHg, respostas similares aos efeitos do tabagismo (BENOWITZ, 1988; SUTHERLAND *et al.*, 1992).

A nicotina, em concentrações similares a dos cigarros de fumantes, modula as características estruturais e funcionais de culturas de células endoteliais e de músculo liso vascular (THYBERG, 1986). Embora o mecanismo não esteja muito claro, a nicotina pode produzir danos às células endoteliais (LIN *et al.*, 1992). A administração de nicotina oral em ratos mostrou uma produção maior do espessamento miointimal da aorta em relação aos animais controle (KRUPSKI *et al.*, 1987).

1.6. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA (SRAA) E ANTAGONISTAS DE RECEPTORES AT₁

A ECA desempenha importante papel na regulação do tônus vascular por converter a ANG I, decapeptídeo biologicamente inativo, em ANG II, octapeptídeo proliferativo e vasoconstritor. De modo similar, a ECA inativa a BK, um nonapeptídeo vasodilatador (ERDÖS & SKIDGEL, 1987).

A ANG II é um peptídeo derivado da proteína precursora angiotensinogênio por meio da ação sequencial de várias enzimas. Na via clássica do sistema renina-angiotensina (SRA), o angiotensinogênio é clivado pela enzima renina, gerando ANG I que, por sua vez,

sofre ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) originando a ANG II. Estas reações ocorrem no plasma e em vários tecidos como músculo liso vascular, células endoteliais, rins, cérebro, glândulas adrenais e ovários.

BOSSALLER *et al.*, (1992) concluíram que a inibição crônica da ECA aumenta a liberação de fatores de relaxamento endotélio-dependente em anéis de aorta de ratos normotensos.

Dois subtipos de receptores para ANG II são conhecidos: AT₁ e AT₂ (LIN & GOODFRIEND, 1970). A maioria dos efeitos fisiológicos da ANG II são mediados pela ativação de receptores AT₁, enquanto poucos efeitos têm sido atribuídos à ativação de receptores AT₂. Os receptores para ANG II também pertencem à superfamília de receptores acoplados a proteínas G e, no caso dos receptores AT₁, o acoplamento ocorre via proteínas Gq. Consequentemente, a estimulação de receptores AT₁ ativa a fosfolipase C, aumenta os níveis de diacilglicerol e trifosfato de inositol, eleva a concentração de Ca²⁺ intracelular e promove ativação de várias quinases modulando as funções celulares. A ANG II também estimula o crescimento celular por meio de fosforilação da tirosina-quinase e conseqüente ativação de proteínas envolvidas na transcrição do DNA.

Entre as ações da ANG II podemos citar contração e proliferação de células do músculo liso vascular, aumento da contratilidade e indução de hipertrofia cardíaca, estimulação da secreção de aldosterona e liberação de vasopressina, aumento da descarga do sistema nervoso simpático, inibição da liberação de renina, entre outras.

Para inibir os efeitos da ANG II, dispomos de dois grupos de drogas: os inibidores da ECA e os antagonistas de receptores AT₁. Ambos são utilizados no tratamento da hipertensão arterial e insuficiência cardíaca. Possíveis diferenças em relação ao mecanismo de ação podem ser devido ao acúmulo de bradicinina, promovido pelos inibidores da ECA (WOOD, 1996).

A administração de inibidores da ECA pode restaurar à normalidade a função vascular dependente do endotélio em animais (CLOZEL *et al.*, 1990) e humanos (MORENO *et al.*, 1995). CLOZEL *et al.*, (1990) mostraram que os inibidores da ECA cilazapril e captopril, melhoraram o relaxamento dependente do endotélio em aorta de ratos espontaneamente hipertensos. Outros estudos sugerem que o inibidor da enzima conversora

de angiotensina, aumentando a disponibilidade de bradicinina, estimula a liberação de óxido nítrico com conseqüente vasodilatação (MOMBOULI *et al.*, 1992; WIEMER *et al.*, 1991). No entanto, os mecanismos envolvidos na disfunção vascular relacionada ao tabagismo não são totalmente conhecidos. Também, estudos sobre os efeitos do tabagismo na vasodilatação mediada ou não pelo endotélio são controversos (CELERMAJER *et al.*, 1993; JACOBS *et al.*, 1993).

No presente estudo investigamos se a administração aguda da nicotina modifica a resposta hipotensora à bradicinina em ratos. Além disso, o sistema renina angiotensina-aldosterona encontra-se ativado em fumantes (LAUSTIOLA *et al.*, 1988; SUGIYAMA *et al.*, 1988) e a inibição deste sistema atenua o comprometimento do relaxamento dependente do endotélio causado pela fumaça do cigarro (OTA *et al.*, 1997). Investigamos também, se o pré-tratamento com o losartan (antagonista de receptor AT₁ de ANG II) ou com enalapril (inibidor da enzima conversora de angiotensina), alteram a resposta hipotensora à bradicinina na presença de nicotina.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

2. OBJETIVOS

1. Avaliar em ratos os efeitos agudos da nicotina administrados, em bolo, sobre a resposta hipotensora induzida pela bradicinina, isto é, dependente do endotélio.
2. Investigar se a participação do sistema renina-angiotensina/cíninas interfere nesta resposta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Animais

Para o presente estudo foram utilizados ratos macho da cepa Wistar provenientes do CEMIB da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), pesando entre 200 e 300 gramas, mantidos em gaiolas coletivas, em número de 5 por unidade, no biotério do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, com ciclo claro/escuro de luzes acesas às 6:00 horas. Os animais tiveram acesso à água e ração Nuvilab CR1[®] (contendo 2,3 mg de sódio por grama de ração) “ad libitum”.

3.1.2. Grupos experimentais

Foram estudados 3 grupos experimentais:

- Grupo CONTROLE (GC): incluiu 16 animais que receberam somente ração Nuvilab CR1[®] e água fresca.
- Grupo ENALAPRIL (GE): incluiu 16 animais que receberam 25 mg/kg/dia (MORENO *et al.*, 1995) de maleato de enalapril acrescentados à água ingerida, protegido da luz.
- Grupo LOSARTAN (GL): incluiu 15 animais que receberam 10 mg/kg/dia (RODRIGO *et al.*, 1997) de Losartan acrescentados à água ingerida, protegido da luz.

O período de tratamento para todos os grupos foi de 2 semanas. Um balanço hídrico diário permitiu a adequação do volume de água ingerido pelos animais, visando a ingestão total dos fármacos nos grupos tratados com enalapril ou losartan. O mesmo procedimento foi realizado em relação ao grupo CONTROLE.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Avaliação do peso corporal (PCorp) e pressão arterial de cauda (PAC)

Previamente ao início do estudo (semana basal), e durante os 14 dias de tratamento (1ª e 2ª semanas), os animais foram pesados duas vezes por semana, usando-se uma balança para pequenos animais (Balança para pequenos animais, Harvard Apparatus, Inc., MA, USA). Nos mesmos dias, a pressão arterial de cauda foi avaliada. A medida da pressão arterial de cauda era obtida estando o animal em estado de vigília, após aquecimento em gabinete com temperatura controlada (gabinete para aquecimento de ratos), para produzir vasodilatação arterial. A pressão arterial de cauda foi avaliada, utilizando-se manguito colocado em torno da cauda do animal. Este manguito estava conectado a um sensor (sistema indireto de medida de pressão arterial, Harvard Apparatus, Inc., MA, USA). O manguito foi inicialmente insuflado a um valor superior à da pressão arterial normal do animal, para em seguida ser desinsuflado, lentamente, até que as pulsações arteriais detectadas por método pletismográfico fossem visíveis ao osciloscópio.

Os valores médios das duas medidas semanais do peso corporal e da pressão arterial de cauda foram usados como representativos de cada semana.

3.2.2. Procedimento cirúrgico e monitorização da pressão arterial média (PAM)

No 15º dia, os animais foram inicialmente anestesiados com pentobarbital sódico (40mg/kg de peso animal) (SANDER *et al.*, 1995) administrado pela via intraperitoneal e, quando necessário, doses de manutenção foram administradas no decorrer do experimento.

Após imobilização em tábua cirúrgica, os animais foram traqueotomizados e entubados com cânula endotraqueal de polietileno para manutenção do padrão respiratório normal. Através desta mesma incisão, a carótida direita foi dissecada e isolada da pele, traquéia, glândula tireóide, musculatura paratraqueal e do nervo vago. As extremidades da carótida, foram clampeadas, isolando-se a porção distal com fio de algodão nº 5.0. Através

de uma pequena incisão na parede anterior da carótida, um cateter heparinizado (PE₅₀) foi introduzido na artéria para medida da pressão arterial média (PAM). Este cateter estava acoplado a um transdutor de pressão COBE (Arvada, CO). O sinal amplificado da PAM emitido pelo transdutor era registrado em polígrafo GP4A-general (Stemtech, MacLab/PowerLab, Milford, MA). A saída do amplificador estava conectada a uma placa analógico digital e esta a um computador contendo software CODAS (AT-CODAS; DATAQ Instruments Inc., Akron, OHIO).

A veia femoral esquerda ou direita foi canulada e mantida com um cateter heparinizado para administração dos fármacos em estudo.

3.2.3. Curva dose-resposta à bradicinina (BK)

Após o procedimento cirúrgico descrito acima a BK foi administrada, em bolo, via intravenosa (femoral) nas concentrações de 0,1; 0,4; 1,6; 6,3; 25 e 100 µg/kg de peso animal (VAN DEN BUUSE & KERKHOFF, 1991), dissolvidas em salina.

Antes da administração de cada dose, aguardava-se 2 a 10 minutos para estabilização da pressão arterial. Quarenta e cinco minutos após a última dose, administrou-se nicotina (CRUZ & VIDRIO, 1997) (200µg/kg em 0,1mL de salina, iv) ou salina (0,1mL). Imediatamente após a estabilização da pressão arterial, repetiu-se as doses de BK indicadas acima.

3.2.4. Análise dos valores de E_{max}, ED₅₀ e Log ED₅₀

As respostas individuais às doses de BK gerada em cada experimento foram ajustadas para uma equação logística usando o programa ALLFIT (MACKAY, 1988). Este programa ALLFIT fornece uma estimativa da resposta máxima (E_{max}) e da dose produzindo 50% de efeito máximo (ED₅₀). A transformação em logaritmo (log) foi efetuada sobre os valores individuais de ED₅₀, e a média geométrica foi calculada como anti-log da média dos valores logarítmicos.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

3.2.5. Análise estatística

Os resultados são mostrados sob a forma de média±erro-padrão da média (média±EPM). Para a análise destes resultados foram utilizados testes paramétricos (Sigma Stat, Jandel Scientific Co, CA, USA) levando-se em consideração a natureza das distribuições dos valores e a variabilidade das medidas efetuadas. Os testes aplicados foram:

- Análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas foi aplicada para comparar as médias de peso corporal e de pressão arterial de cauda nos ratos durante as 2 semanas de estudo em cada grupo experimental. Quando significativo, o Teste de Dunnett foi utilizado para definir as superposições e contrastes nos valores confrontados.
- Análise de variância (ANOVA) para medidas independentes foi aplicada para comparar as médias de peso corporal e de pressão arterial de cauda entre grupos experimentais.
- Testes “t” de Student - pareados foram utilizados para comparar os valores de E_{max} e ED_{50} em cada grupo experimental.
- Testes “t” de Student - não pareado foram utilizados para comparar os valores de E_{max} e ED_{50} , entre os grupos Controle, Enalapril e Losartan.

Em todos os testes fixou-se em 5% (erro $\alpha < 0,05$) o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com os seguintes símbolos (*,**) os valores significativos.

4.RESULTADOS

4.1. AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL E PRESSÃO ARTERIAL DE CAUDA

4.1.1. Peso Corporal (PCorp)

Os grupos CONTROLE, ENALAPRIL e LOSARTAN ganharam peso durante o período de tratamento, porém não houve diferença significativa, entre os grupos experimentais quanto à evolução do ganho de peso ponderal (Figura 1).

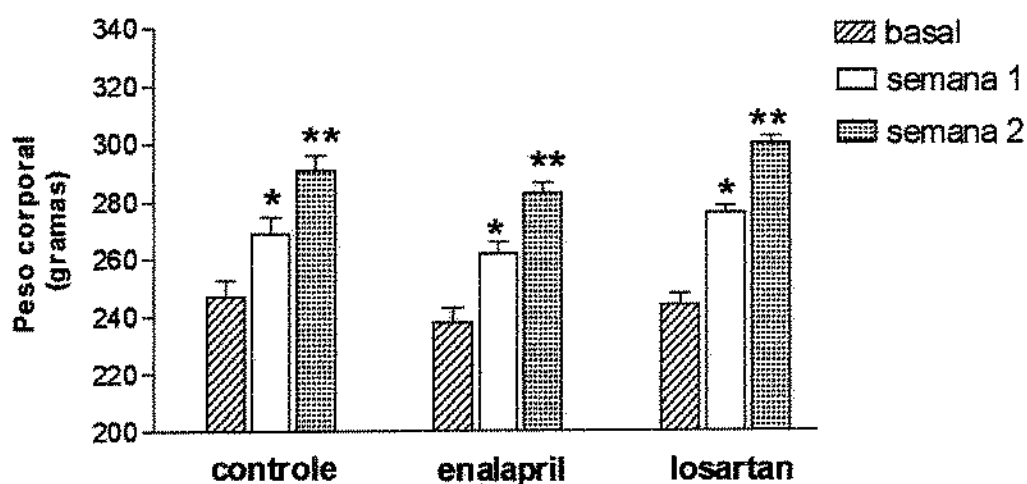


Figura 1. Curva dos valores, média±EPM do peso corporal, dos grupos experimentais durante as 3 semanas de estudo. * $p < 0,05$, versus Basal ** $p < 0,05$, versus 1ª semana.

4.1.2. Pressão Arterial de Cauda (PAC)

Não houve diferença significativa, entre os grupos experimentais quanto à pressão arterial de cauda, embora os animais tratados com enalapril ou losartan tenham apresentado discreta alteração da PAC durante a primeira semana de tratamento. E esta alteração bem como o restabelecimento da pressão arterial na segunda semana de tratamento pode ser observado na Figura 2.

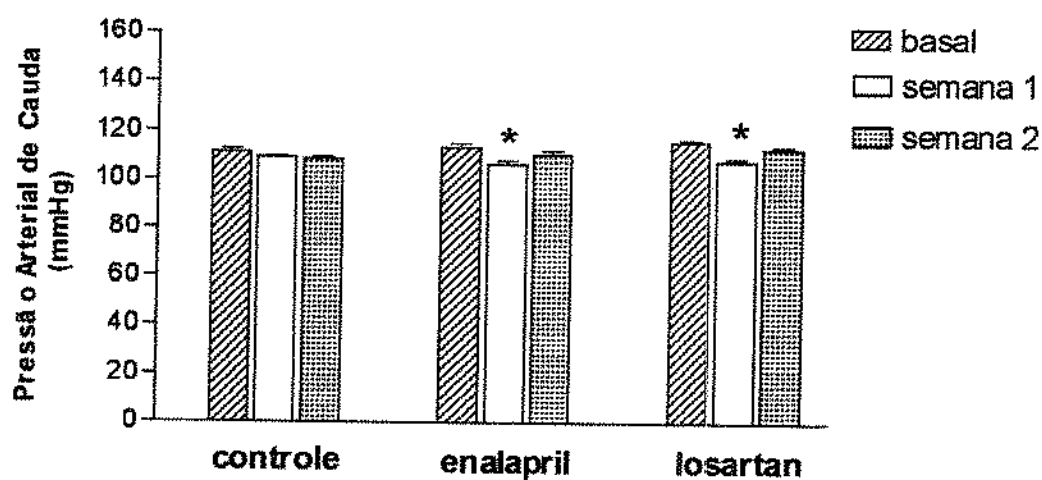


Figura 2. Curva dos valores, média±EPM da pressão arterial de cauda, expressa em milímetros de mercúrio (mmHg), dos grupos experimentais durante as 3 semanas de estudo. * $p < 0,05$, versus basal

4.2. CURVA DOSE-RESPOSTA À BRADICININA

4.2.1. Curva dose-resposta à BK no grupo Controle (GC)

4.2.1.1. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de salina.

A Figura 3 mostra o efeito das diferentes doses de BK no Grupo CONTROLE antes e após a administração de salina. Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de salina não alterou a resposta hipotensora induzida pela BK (Figura 3).

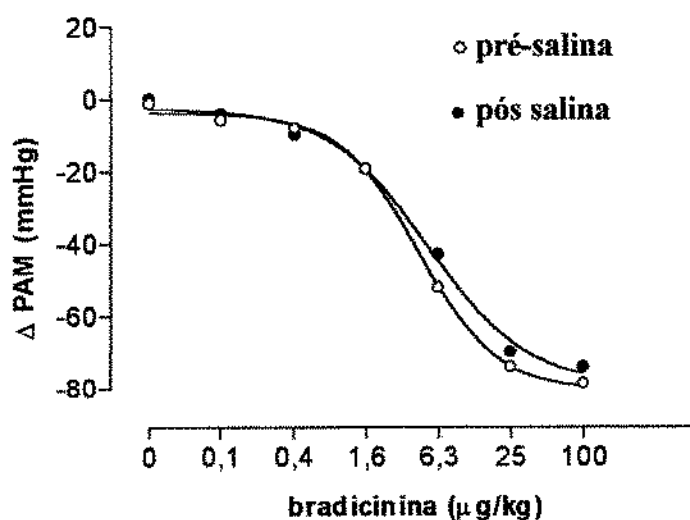


Figura 3. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração, em bolo, de salina no Grupo CONTROLE (n=4). Círculo aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de salina. Círculo fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença de salina.

4.2.1.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.

A Figura 4 mostra o efeito das diferentes doses de BK no grupo CONTROLE, antes e após a administração de nicotina (200µg/kg). Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de nicotina diminuiu a resposta hipotensora mediada pela BK.

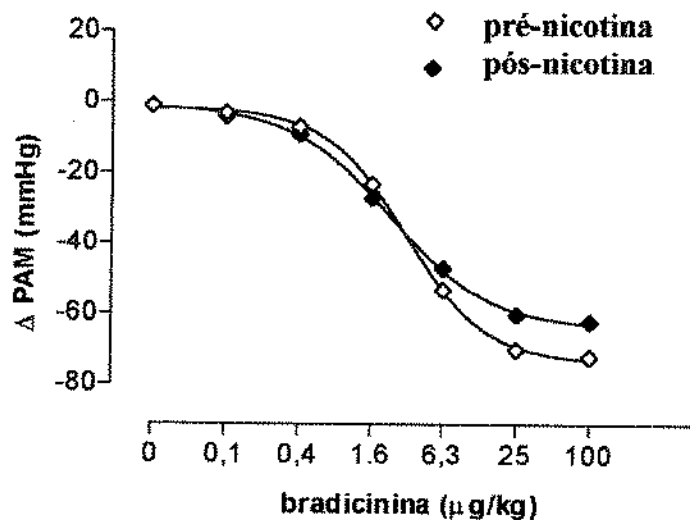


Figura 4. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração, em bolo, de nicotina no Grupo CONTROLE (n=12). Losango aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de nicotina. Losango fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença da nicotina.

TRICAMIC

REPTILIA CENTRAL

DO CIRCULANTE

4.2.2. Curva dose-resposta à BK no grupo ENALAPRIL (GE)

4.2.2.1. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de salina.

Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de salina não alterou a resposta hipotensora induzida pela BK, porém houve um desvio à esquerda da curva dose-resposta (Figura 5).

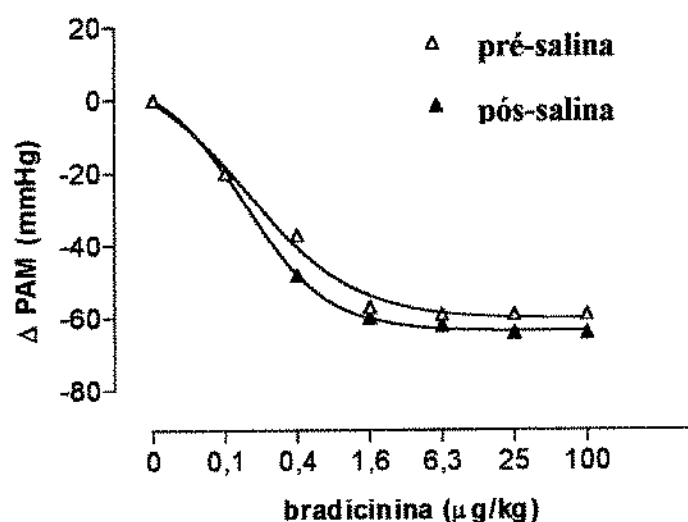


Figura 5. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração, em bolo, de salina no Grupo Enalapril (n=5). Triângulo aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de salina. Triângulo fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença da salina.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

4.2.2.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.

A Figura 5 mostra o efeito das diferentes doses de BK do grupo ENALAPRIL antes e após a administração de nicotina (200µg/kg). Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de nicotina diminuiu a resposta hipotensora mediada pela BK, porém houve um desvio à esquerda da curva dose-resposta.

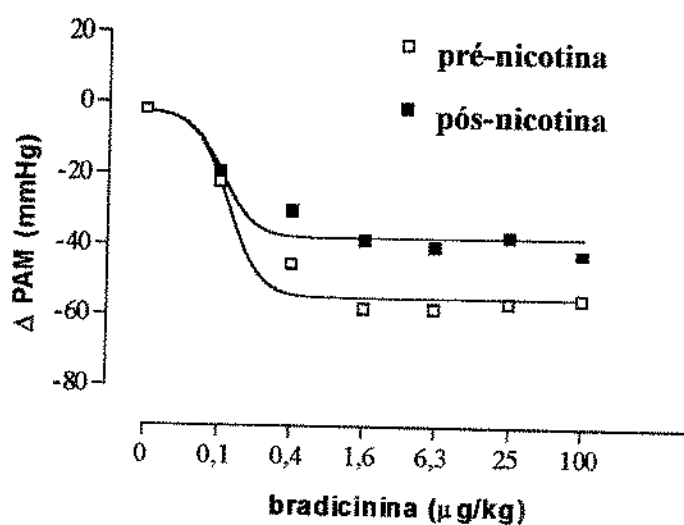


Figura 6. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração, em bolo, de nicotina no Grupo Enalapril (n=11). . Quadrado aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de nicotina. Quadrado fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença da nicotina.

4.2.3. Curva dose-resposta à BK do grupo LOSARTAN (GL)

4.2.3.1. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de salina.

A Figura 7 mostra o efeito das diferentes doses de BK do grupo LOSARTAN antes e após a administração de salina. Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de salina não alterou a resposta hipotensora induzida pela BK (Figura 7).

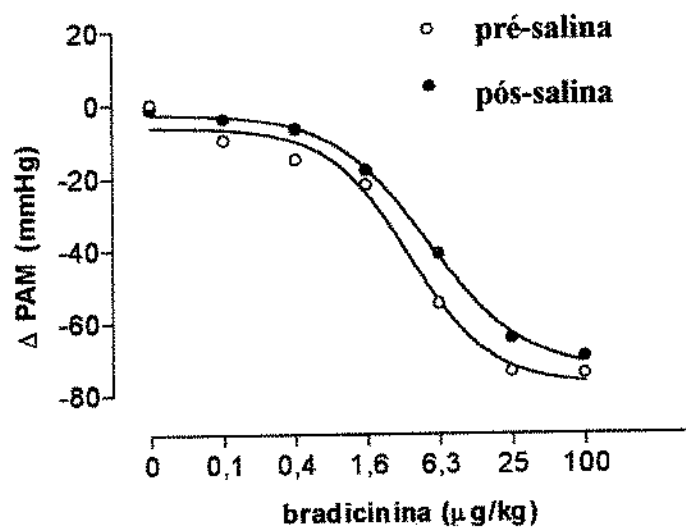


Figura 7. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração, em bolo, de salina no Grupo LOSARTAN ($n=5$). Círculo aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de salina. Círculo fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença da salina.

4.2.3.2. Curva dose-resposta à BK antes e após a administração de nicotina.

A Figura 8 mostra o efeito das diferentes doses de BK do grupo LOSARTAN, antes e após a administração de nicotina(200µg/kg). Os resultados obtidos na curva dose-resposta à BK mostram que a administração de nicotina diminuiu a resposta hipotensora mediada pela BK.

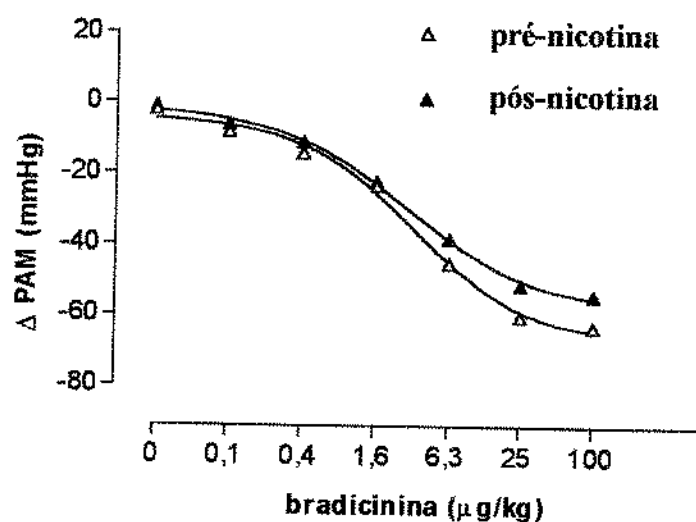


Figura 8. Curva dose-resposta à bradicinina da variação da PAM, antes e após a administração de nicotina no Grupo LOSARTAN (n=10). Triângulo aberto: 1ª curva dose-resposta à BK, na ausência de nicotina. Triângulo fechado: 2ª curva dose-resposta à BK, na presença da nicotina.

4.3. ANÁLISE DOS VALORES DE E_{MAX} , ED_{50} E $LOG ED_{50}$

4.3.1. Grupo Controle (GC)

As Figuras 9 e 10 mostram os valores de E_{max} e ED_{50} , expressos, respectivamente, em mmHg e $\mu g/kg$, antes e após a administração, em bolo, de salina ou nicotina.

Os resultados obtidos mostraram que a administração de salina não apresentou diferença significativa, quanto aos valores de E_{max} e ED_{50} (Tabela 1 e Figuras 9 e 10). Entretanto, os resultados mostraram que a administração de nicotina apresentou diferença significativa, para os valores de E_{max} (de $-73 \pm 2,1$ a $-65 \pm 1,0$), $p < 0,05$, conforme Figura 9 e Tabela 1.

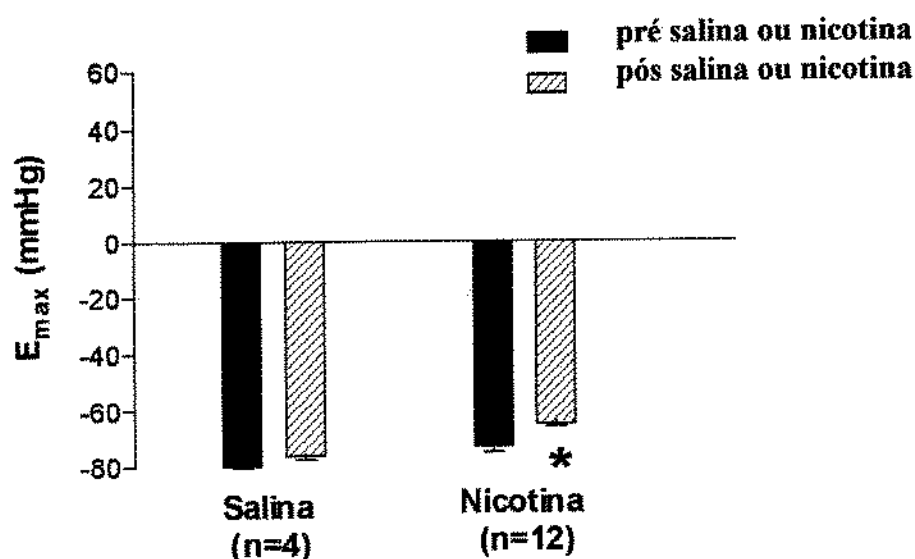


Figura 9. Valores da média $\pm$ EPM de E_{max} , expresso em mmHg, antes e após a administração de salina ou de nicotina no Grupo CONTROLE (n=16). * $p < 0,05$, versus pré nicotina.

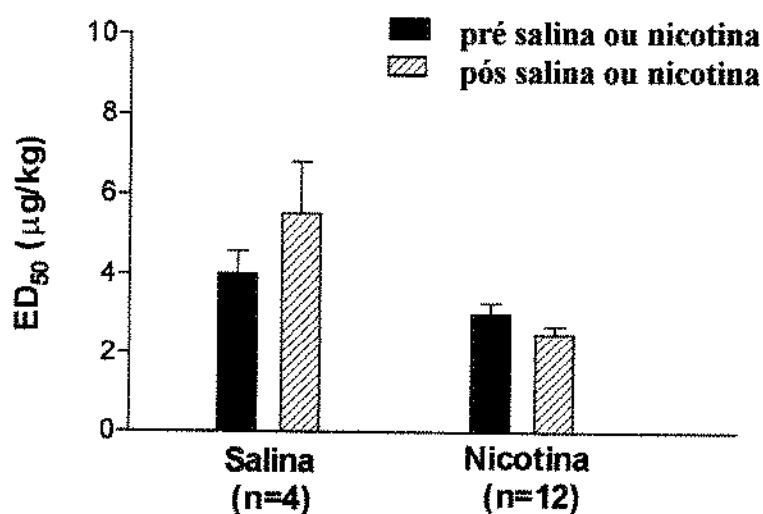


Figura 10. Valores da média±EPM de ED₅₀, expresso em µg/kg, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo CONTROLE (n=16). p>0,05.

	SALINA (n=4)		NICOTINA (n=12)	
	Pré-Salina	Pós-Salina	Pré-Nicotina	Pós- Nicotina
E _{max} (mmHg)	-80 ± 0,6	-76 ± 1,5	-73 ± 2,1	-66 ± 1,0*
ED ₅₀ (µg/kg)	4,3 ± 0,5	5,5 ± 1,3	3,0 ± 0,3	2,5 ± 0,2
Log ED ₅₀ (µg/kg)	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,04	0,4 ± 0,05	0,4 ± 0,03

Tabela 1. Valores média±EPM de E_{max}, ED₅₀ e log ED₅₀, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo CONTROLE. * p=0.01, versus pré-nicotina. p>0,05: vide anexo 21. O volume administrado de salina ou nicotina é de 0,1 mL.

4.3.2. Grupo Enalapril (GE)

As Figuras 11 e 12 mostram os valores de E_{max} e ED_{50} , expressos em mmHg e $\mu\text{g/kg}$, respectivamente, antes e após a administração, em bolo de salina ou nicotina ($200\mu\text{g/kg}$).

Os resultados obtidos mostraram que a administração de salina não apresentou diferença significativa, quanto nos valores de E_{max} e ED_{50} (Tabela 2 e Figuras 11 e 12). Entretanto, os resultados mostraram que a administração de nicotina apresentou diferença significativa, para os valores de E_{max} (de $-58 \pm 2,8$ a $-43 \pm 2,3$), $p < 0,05$, conforme Figura 11 e Tabela 2.

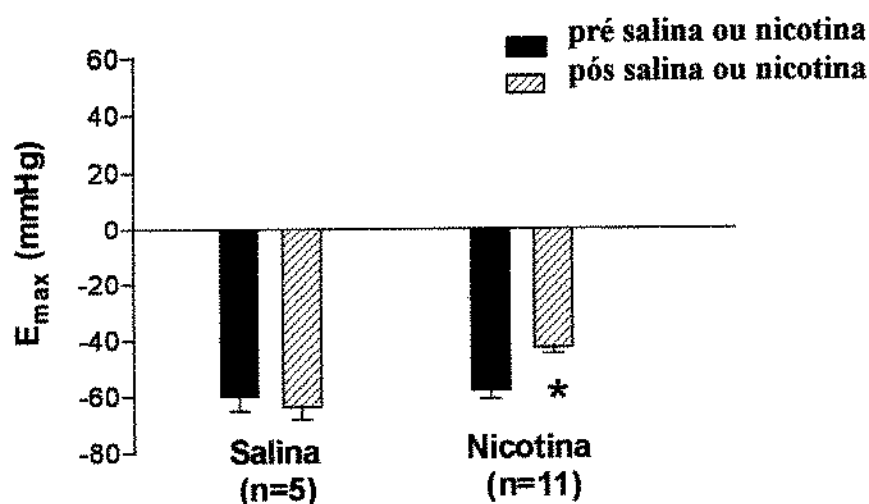


Figura 11. Valores da média $\pm$ EPM de E_{max} , expresso em mmHg, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo ENALAPRIL ($n=16$). * $p < 0,05$, versus pré nicotina.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

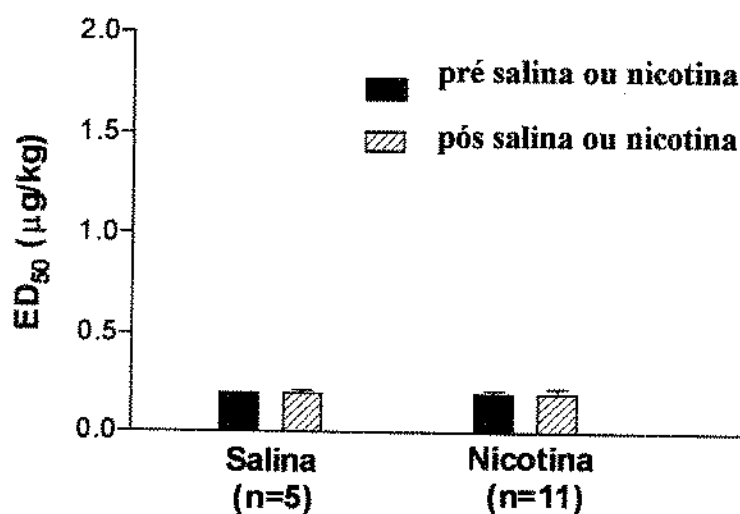


Figura 12. Valores da média±EPM de ED₅₀, expresso em µg/kg, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo ENALAPRIL (n=16). $p>0,05$.

	SALINA (n=4)		NICOTINA (n=12)	
	Pré-Salina	Pós-Salina	Pré-Nicotina	Pós- Nicotina
E _{max} (mmHg)	-60 ± 5,3	-64 ± 4,3	-58 ± 2,8	-43 ± 2,3*
ED ₅₀ (µg/kg)	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,03
Log ED ₅₀ (µg/kg)	-0,7± 0,0	-0,7± 0,05	-0,8 ± 0,06	-0,9 ± 0,1

Tabela 2. Valores média±EPM de E_{max}, ED₅₀ e log ED₅₀, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo ENALAPRIL. * $p=0,0006$, versus pré-nicotina $p>0,05$; vide anexo 22. O volume administrado de salina ou nicotina é de 0,1 mL.

4.3.3. Grupo Losartan (GL)

As Figuras 13 e 14 mostram os valores de E_{max} e ED_{50} , expressos em mmHg e $\mu\text{g/kg}$, respectivamente, antes e após a administração, em bolo de salina ou nicotina ($200\mu\text{g/kg}$).

Os resultados obtidos mostraram que a administração de salina não apresentou diferença significativa, quanto nos valores de E_{max} e ED_{50} (Tabela 3 e Figuras 13 e 14). Entretanto, os resultados mostraram que a administração de nicotina apresentou diferença significativa, para os valores de E_{max} (de $-68 \pm 2,3$ a $-63 \pm 1,0$), $p < 0,05$, conforme Figura 13 e Tabela 3.

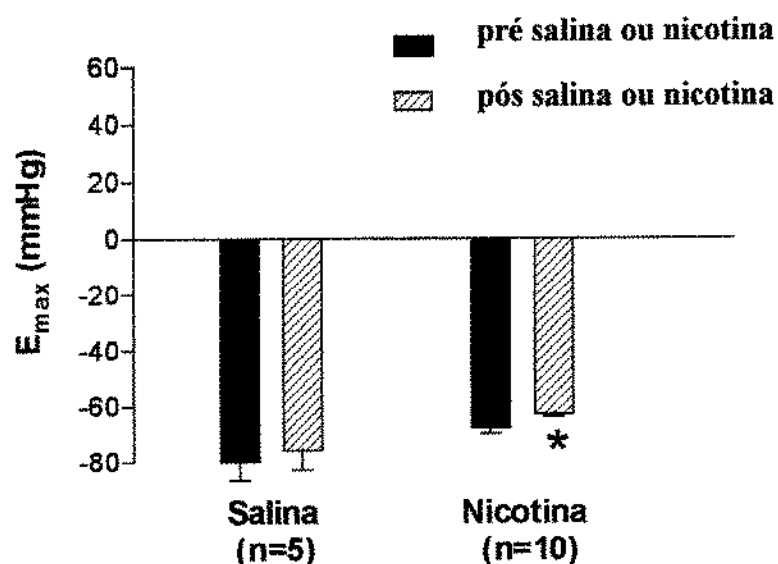


Figura 13. Valores da média $\pm$ EPM de E_{max} , expresso em mmHg, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo LOSARTAN ($n=16$). * $p < 0,05$, versus pré nicotina.

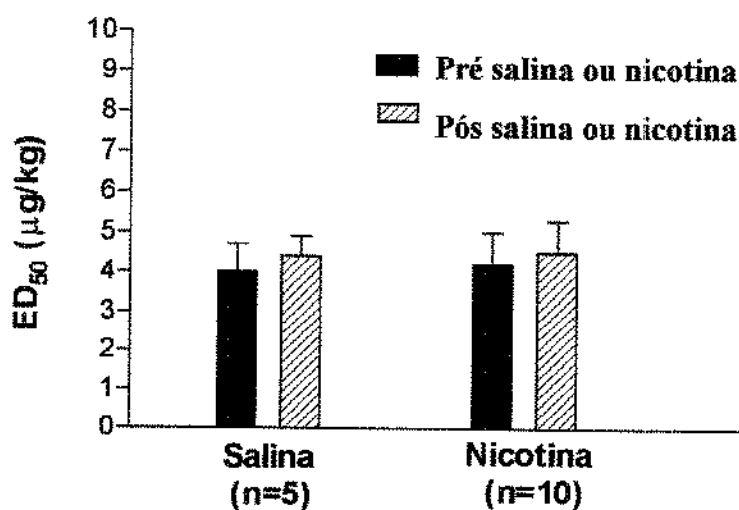


Figura 14. Valores da média±erro-padrão da média de ED₅₀, expresso em µg/kg, antes e após a administração de salina ou nicotina no Grupo LOSARTAN (n=16). p>0,05.

	SALINA (n=4)		NICOTINA (n=12)	
	Pré-Salina	Pós-Salina	Pré-Nicotina	Pós- Nicotina
E _{max} (mmHg)	-80 ± 6,6	-76 ± 6,9	-68 ± 2,3	-63 ± 1,0*
ED ₅₀ (µg/kg)	4,0 ± 0,7	4,4 ± 0,5	4,2 ± 0,8	4,5 ± 0,8
Log ED ₅₀ (µg/kg)	0,6 ± 0,07	0,6 ± 0,04	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,08

Tabela 3. Valores média±EPM de E_{max}, ED₅₀ e log ED₅₀, antes e após a administração de salina ou nicotina do Grupo LOSARTAN. * P=0.01, versus pré-nicotina. p>0,05: vide anexo 23. O volume administrado de salina ou nicotina é de 0,1 mL.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

5. DISCUSSÃO

Muitos investigadores têm demonstrado que o ato de fumar está associado com disfunção endotelial (HEITZER *et al.*, 1996a; HEITZER *et al.*, 1996b; JACOBS *et al.*, 1993; MCVEIGH *et al.*, 1996). Embora os mecanismos exatos envolvidos na disfunção endotelial não estejam completamente estabelecidos, a redução da resposta vascular à substâncias vasodilatadoras endotélio dependente sugerem que o ato de fumar compromete a integridade funcional do endotélio (MORENO *et al.*, 1998). A nicotina desempenha um importante papel nos efeitos cardiovasculares do ato de fumar porque ela interage com o endotélio (MACKLIN *et al.*, 1998; VILLABLANCA, 1998) diminuindo a vasodilatação endotélio dependente (MAYHAN *et al.*, 1997).

Cruz e Vidrio (1997), demonstraram que doses idênticas de 200µg/kg de nicotina, administradas tanto em bolo, quanto em infusão contínua não apresentaram taquifilaxia, mas produziram aumento significativo da PAM. Estudo recente mostrou que a nicotina nas doses de 0,6 e 2 µmol/kg aumentaram a PAM, dose de 6 µmol/kg obteve resposta pressórica menor e a PAM não alterou significativamente com a dose de 20 µmol/kg (TANUS-SANTOS *et al.*, 2000). Estes efeitos pressóricos agudo da nicotina no trabalho de TANUS-SANTOS são semelhantes ao estudo de DOMINIAK *et al.*, 1985.

O presente estudo demonstra que a administração aguda de 200µg/kg (1,24 µmol/kg) de nicotina diminui a hipotensão induzida pelo vasodilatador endotélio dependente, bradicinina. Considerando, que esta dose de 200µg/kg de nicotina produz aumento significativo da pressão arterial média, os resultados obtidos também mostram que com a mesma dose há uma redução na resposta hipotensora à BK.

Podemos comparar também no presente estudo, que a resposta hipotensora à BK após a administração da nicotina está alinhada com estudos prévios, os quais demonstram que a administração aguda da nicotina inibe a ação vasodilatadora da BK (TURKER *et al.*, 1982). Similarmente, outros estudos demonstram que a exposição à nicotina (MAYHAN e SHARPE, 1998) ou ao extrato do fumo (OTA *et al.*, 1997; RUBENSTEIN *et al.*, 1991), comprometem o relaxamento do vaso dependente do endotélio.

O mecanismo através do qual a nicotina reduz a reatividade vascular ou a resposta à BK é controverso. É bem conhecido que a BK causa vasodilatação por atuar em receptores cininas B₂ nas células do endotélio estimulando, assim, a liberação de

prostaciclina, NO e Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio (LINZ *et al.*, 1999 e REGOLI *et al.*, 1998). A nicotina inibe a liberação de NO em resposta a acetilcolina e ao difosfato de adenosina em hamsters (MAYHAN *et al.*, 1999). Também, uma redução na atividade do NO basal ocorre em fumantes e é, ao menos, parcialmente responsável por prejudicar o relaxamento dependente do endotélio em tabagistas (MCVEIGH *et al.*, 1996; SU *et al.*, 1998; HIGMAN *et al.*, 1996; KIEWSKI *et al.*, 1994). A L-arginina exógena restaurou o venorelaxamento à BK em fumantes, desse modo dando um suporte adicional à sugestão que o relaxamento dependente do endotélio prejudicado nestes sujeitos é provavelmente atribuído ao distúrbio da via L-arginina/NO (MORENO *et al.*, 1998). Alternativamente, a exposição à nicotina pode aumentar a produção de radicais livres derivados do oxigênio que, por sua vez, podem sequestrar o NO e contribuir para o comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio (MAYHAN e SHARPE, 1998; MAYHAN *et al.*, 1999). Existe, portanto, a possibilidade de que a nicotina diminua a resposta hipotensora à BK por prejudicar a liberação da mesma ou a resposta à outras substâncias dilatadoras.

Conforme demonstrado neste estudo, o tratamento prévio com enalapril e losartan não atenuam a resposta à BK observado após injeção de nicotina. Em contraste a este resultado, o captopril atenua o comprometimento de relaxamento dependente do endotélio causado pelo extrato da fumaça do cigarro (OTA *et al.*, 1997). Esta divergência entre estudos pode resultar: a) da ausência de radical sulfidrílica no enalapril, o qual pode sequestrar radicais livres derivados do oxigênio (GOLDSCHMIDT e TALLARIDA, 1991); b) da presença de outros componentes além da nicotina no extrato da fumaça do cigarro e c) de diferenças em preparações experimentais.

SCHULTZ e RAIJ (1989), trataram ratos normotensos com captopril ou enalapril adicionados na água de beber por 2 semanas e demonstraram que o captopril, mas não o enalapril altera significativamente o relaxamento endotélio dependente à acetilcolina. De onde concluíram que o grupo sulfidrílica do captopril é importante para o aumento do relaxamento endotélio dependente. BOSSALLER *et al.* (1992), demonstraram que seis semanas

de tratamento com enalapril também aumentou significativamente o relaxamento dos vasodilatadores endotélio dependente. Assim, esta diferença pode indicar que o período de

tratamento acima de duas semanas é necessário para observar o efeito do enalapril sobre o relaxamento do endotélio.

Embora os inibidores da ECA melhorem a função endotelial em ratos hipertensos (CLOZEL *et al.*, 1990), em doenças arteriais coronárias ateroscleróticas (MANCINI *et al.*, 1996) e em fumantes (CHALON *et al.*, 1999), os resultados obtidos sugerem que o tratamento prévio por duas semanas com enalapril não restaura a normalidade da resposta reduzida à BK causada pela nicotina.

Nos estudos realizados, o pré-tratamento com enalapril foi também de duas semanas, e os resultados obtidos mostram que este tratamento prévio não interferiu na resposta hipotensora à BK após a administração de nicotina. Se considerarmos a possibilidade de que os inibidores da enzima conversora de angiotensina necessitam que o tratamento, em ratos normotensos, seja realizado por longo período de tempo (acima de 2 semanas) para exercer efeito de proteção a função endotelial, sugerimos aos próximos estudos um período maior de tratamento, para que possamos comparar os efeitos da nicotina.

A administração intravenosa com doses diferentes de BK diminuiu a pressão sanguínea tanto em ratos normotensos como hipertensos e, o pré-tratamento com captopril aumentou o efeito da BK, apresentando curva dose-resposta à esquerda (VAN DEN BUUSE e KERKHOFF, 1991). Nosso estudo também mostrou um desvio à esquerda da curva dose-resposta à BK do grupo enalapril em relação aos grupos controle e losartan. Este desvio ficou demonstrado pelos valores de ED_{50} ($0,2 \pm 0,0$; $4,3 \pm 0,5$ e $4,0 \pm 0,7$) dos grupos enalapril, controle e losartan, respectivamente. Podemos considerar então, que há interação da BK com o sistema renina angiotensina e que os inibidores da ECA atenuam a degradação da BK e inibem a formação do vasoconstritor angiotensina II, conforme estudos realizados, também, por PONTEIRI *et al.*, (1990) e SHARMA, (1990).

Os níveis de bradicinina e angiotensina II, dentro da parede vascular, são controlados pela enzima conversora de angiotensina, a qual é responsável por degradar a bradicinina e produzir angiotensina II. Sabe-se também que a bradicinina estimula células endoteliais para liberar substâncias vasodilatadoras e que esta ação é mantida apesar da disfunção endotelial, exceto se houver lesão arterial severa. De acordo com os autores a angiotensina II pode ser em parte responsável pela disfunção endotelial por induzir

resistência a ação vasodilatadora do NO. Assim, o comprometimento da produção de angiotensina II bloqueia o efeito vasoconstritor do mesmo (MOMBOULI e VANHOUTTE, 1999). Também, o efeito vasoconstritor da angiotensina II pode ser reduzido por antagonismo de receptores AT_1 de angiotensina (DE LAS HERAS *et al.*, 1999). LAUSTIOLA *et al.*, (1988) e SUGIYAMA *et al.*, (1988), mostraram que o sistema renina-angiotensina-aldosterona está ativado em fumantes. Nós hipotetizamos que a angiotensina II pudesse estar envolvida na disfunção endotelial induzida pela nicotina. Contudo, o pré-tratamento com losartan não alterou a resposta hipotensora à BK reduzida pela nicotina. Assim os resultados sugerem que a nicotina diminui a resposta à BK através de um mecanismo que não envolve receptores AT_1 .

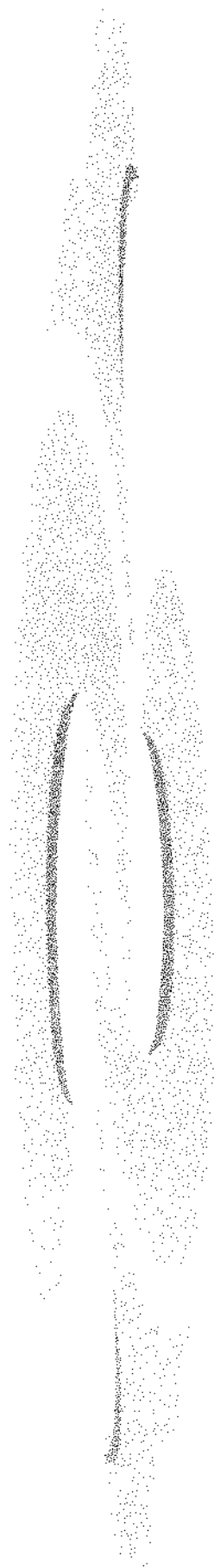
Observamos que na curva dose-resposta à BK no grupo losartan não houve desvio à esquerda, quando comparada com o grupo enalapril (Tabelas 2 e 3). WOOD, 1996 mostrou que possíveis diferenças entre os mecanismos de ação dos inibidores da ECA e antagonista de receptor AT_1 , podem ser devido ao acúmulo de BK, promovido pelos inibidores da ECA. Também podemos concordar com os estudos de MOMBOULI e VANHOUTTE, (1999), os quais mostram que os inibidores da enzima conversora de angiotensina promovem a liberação de vasodilatadores para restaurar a função vasodilatadora, potencializando o efeito da BK.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

6. CONCLUSÃO

Nossos estudos sugerem que:

- A administração de 200µg/kg de nicotina prejudica a resposta hipotensora dependente do endotélio à BK.
- O efeito agudo de 200µg/kg de nicotina não é influenciado pela inibição da enzima conversora de angiotensina ou pelo antagonista de receptores AT₁.
- A curva dose-resposta à bradicinina no grupo enalapril apresentou desvio à esquerda.
- A curva dose-resposta à bradicinina nos grupos controle e losartan não apresentaram desvio à esquerda.



7. SUMMARY

Nicotine, one of the compounds of cigarette smoke, may contribute to smoking-induced endothelial dysfunction because of its ability to impair endothelium-dependent vasodilatation. We investigated whether the acute administration of nicotine changes the hypotensive responses to bradykinin in rats. The effects of pre-treatment with losartan or enalapril on the nicotine-induced changes in the responses to bradykinin were also evaluated.

In study 1, anesthetized rats were cannulated via carotid artery for the measurement of mean arterial pressure (MAP). Dose-response curves to bradykinin (0.1, 0.4, 1.6, 6.4, 25 and 100 $\mu\text{g/kg}$) were generated before and 10 min after the injection of nicotine (200 $\mu\text{g/kg}$, i.v.) or saline. The individual dose-response curves were fitted to a four-parameter logistic equation using the ALLFIT program, which provided an estimate of the the maximal response (E_{max}) and of the dose of bradykinin producing the half-maximal response (ED_{50}). In study 2, rats were pre-treated orally with losartan (10 mg/kg/day) or enalapril maleate (25 mg/kg/day) for two weeks. Control rats received tap water alone. Blood pressure was measured by the tail-cuff method during the study. After pre-treatment, the rats were anesthetized and used as described in study 1.

In study 1, bradykinin produced dose-dependent hypotensive responses which were not affected by treatment with saline. The administration of nicotine decreased the E_{max} (from -73 ± 2.1 to -66 ± 1.0 mmHg; $P < 0.05$) but did not affect the ED_{50} . In study 2, orally administered losartan or enalapril did not affect the tail-cuff pressure after two weeks, nor did they affect the dose dependent hypotensives responses to bradykinin. Nicotine decreased the E_{max} in both groups (from -68 ± 2.3 to -63 ± 1.0 mmHg, and from -58 ± 2.8 to -43 ± 2.3 mmHg, respectively; $P < 0.05$) without significantly changing the ED_{50} .

These results suggest that the acute administration of nicotine impairs the endothelium-dependent hypotensive responses to BK. This acute effect of nicotine is not influenced by chronic inhibition of the angiotensin converting enzyme or by blockade of the AT_1 receptors.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, T.J.; GERHARD, M.D.; MEREDITH, I.T.; CHARBONNEAU, F.; DELAGRANGE, D.; CREAGER, M.A.; SELWYN, A.P.; GANZ, P. - Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **Am. J. Cardiol.**, **75**: B71-B74, 1995.
- BATLOUNI, B. & RAMIRES, J.A.F. - Importância do endotélio na doença arterial coronária e na aterogênese. **Arq. Bras. Cardiol.**, **62**: 255-269, 1994.
- BENNETT, C.H. & RICHARDSON, D.R. - Time-dependent changes in cardiovascular regulation caused by chronic tobacco smoke exposure. **Am. Phys. Soc.**, **68**: 248-252, 1990.
- BENOWITZ, N.L. - Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. **N. Engl. J. Med.**, **319**: 1318-1330, 1988.
- BENOWITZ, N.L. & GOURLAY, S.G. - Cardiovascular toxicity of nicotine: implications for nicotine replacement. **J. Am. Coll. Cardiol.**, **29**: 1422-1431, 1997.
- BOSSALLER, C.; AUCH-SCHWELK, W.; WEBER, F.; SÖTZE, S.; GRÄFE, M.; GRAF, K.; FLECK, E. - Endothelium-dependent relaxations are augmented in rats chronically treated with the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, **20** (suppl. 9): S91-S95, 1992.
- CALDWELL, P.R.B.; SEEGAL, B.C.; HSU, K.C.; DAS, R.L.; SOFFER, R.L. - Angiotensin converting enzyme: vascular endothelial localization. **Science**, **191**: 1050-1051, 1976.
- CELERMAJER, D.S.; SORENSEN, K.E.; GEORGAKOPOULOS, D.; BULL, C.; THOMAS, O.; ROBINSON, J.; DEANFIELD, J.E. - Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. **Circulation**, **88**: 2149-2155, 1993.
- CHALON, S.; MORENO, H.Jr.; HOFFMAN, B.B.; BLASCHKE, T.F. - Angiotensin-converting enzyme inhibition improves venous endothelial dysfunction in chronic smokers. **Clin. Pharmacol. Ther.**, **65**: 295-303, 1999.

- CLOZEL, M.; KUHN, H.; HEFTI, F. - Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and of hydralazine on endothelial function in hypertensive rats. **Hypertension**, **16**: 532-540, 1990.
- COOKE, J.P. & DZAU, V.J. - Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. **Annu. Rev. Med.**, **48**: 489-509, 1997.
- CRUZ, S.L. & VIDRIO, H. - Tachyphylaxis and sensitization to nicotine-induced tachycardiac and pressor effects after nicotine infusions. **Arch. Med. Res.**, **28**: 189-194, 1997.
- DAVIS, J.W.; SHELTON, L.; WATANABLE, I.S.; ARNOLD, J. - Passive smoking affects endothelium and platelets. **Arch. Intern. Med.**, **149**: 386-389, 1989.
- DE LAS HERAS, N.; ARAGONCILLO, P.; MAESO, R.; VASQUEZ-PEREZ, S.; NAVARRO-CID, J.; DEGASPARO, M.; MANN, J.; RUILOPE, L.M.; CACHOFEIRO, V.; LAHERA, V. - AT(1) receptor antagonism reduces endothelial dysfunction and intimal thickening in atherosclerotic rabbits. **Hypertension**, **34**: 969-975, 1999.
- DOMINIÁK, P., FUCHS, G., TOTH, S., GROBECKER, H. - Effects of nicotine and its major metabolites on blood pressure in anaesthetized rats. **Klin Wochenschr**, **63**: 90-92, 1985.
- ERDŐS, E.G. & SKIDGEL, R. A. - The angiotensin I-converting enzyme. **Lab. Invest.**, **56**: 345-348, 1987.
- ERNE, P.; PLETSCHER, A.; RAINE, A.E.; ROGG, H.; NUSSBERGER, J.; BUHLER, F.R. - Smoking-induced increases in plasma vasopressin and reduces platelet hormone sensitivity. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, **8**(Suppl.7): S18-S22, 1986.
- FLAVAHAN, N.A. - Atherosclerosis or liprotein-induced endothelial dysfunction: potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. **Circulation**, **85**: 1927-1938, 1992.

- FORSTERMANN, U.; MULSCH, A.; BOHME, E.; BUSSE, R. - Stimulation of soluble guanylate cyclase by acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. **Circ. Res.** **58**: 531-538, 1986.
- FURCHGOTT, R.F. - The role of endothelium in the response of vascular smooth muscle to drugs. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, **24**: 175-197, 1984.
- GOLDSCHMIDT, J.E. & TALLARIDA, R.J. - Pharmacological evidence that captopril possesses an endothelium-mediated component of vasodilation: effect of sulfhydryl groups on endothelium-derived relaxing factor. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **257**: 1136-1145, 1991.
- HAMMOND, E.C. & HORN, D. - Smoking and death rates - report on forty-four months of follow-up of 187,783 men. Total mortality. **JAMA.**, **166**:1159-1172, 1958.
- HEITZER, T.; JUST, H.; MÜNDEL, T. - Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. **Circulation**, **94**: 6-9, 1996a.
- HEITZER, T.; YLÄ-HERTTUALA, S.; LUOMA, J.; KURZ, S.; MÜNDEL, T.; JUST, H.; OLSCHESKI, M.; DREXLER, H. - Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL. **Circulation**, **93**: 1346-1353, 1996b.
- HENDERSON, A.H. - Endothelium in control. **Br. Heart J.**, **65**: 116-125, 1991.
- HIGMAN, D.J.; GREENHALGH, R.M.; POWELL, J.T. - Smoking impairs endothelium-dependent relaxation of saphenous vein. **Br. J. Surg.**, **80**: 1242-1245, 1993.
- HIGMAN, D.J.; STRACHAN, A.M.J.; BUTTERY, L.; HICKS, R.C.; SPRINGALL, D.R.; GREENHALGH, R.M.; POWELL, J.T. - Smoking impairs the activity of endothelial nitric oxide synthase in saphenous vein. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, **16**: 546-552, 1996.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

- HILL, G.E.; RUGGEROLI, A.; POHORECKI, R.; ALONSO, A.; ROBBINS, R.A. - Cigarette smoking reduces endogenous airway nitric oxide production during cardiopulmonary bypass in humans. **Anesth. Analg.**, **81**: 170-172, 1995.
- HOLDEN, W.E.; MAIER, J.M.; MALINOW, M.R. - Cigarette smoke extract increases albumin flux across pulmonary endothelium *in vitro*. **J. Appl. Physiol.**, **66**: 443-449, 1989.
- JACOBS, M.C.; LENDERS, J.W.; KAPMA, J.A.; SMITS, P.; THIEN, T. - Effect of chronic smoking on endothelium-dependent vascular relaxation in humans. **Clin. Sci.**, **85**: 51-55, 1993.
- JONAS, M.A.; OATES, J.A.; OCKENE, J.K.; HENNEKENS, C.H. - Statement on smoking and cardiovascular disease for health care professionals. **Circulation**, **86**: 1664-1669, 1992.
- JOSEPH, A.M.; NORMAN, S.M.; FERRY, L.H.; PROCHAZKA, A.V.; WESTMAN, E.C.; STEELE, B.G. - The safety of transdermal nicotine as an aid to smoking cessation in patients with cardiac disease. **N. Engl. J. Med.**, **335**: 1792-1798, 1996.
- KIOWSKI, W.; LINDER, L.; STOSCHITZKY, K.; PFISTERER, M.; BURCKHARDT, D.; BURKART, F.; BUHLER, F.R. - Diminished vascular response to inhibition of endothelium-derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. **Circulation**, **90**: 27-34, 1994.
- KRUPSKI, W.C. - The peripheral vascular consequences of smoking. **Ann. Vasc. Surg.**, **5**: 291-304, 1991.
- KRUPSKI, W.C.; OLIVE, G.C.; WEBER, C.A.; RAPP, J.H. - Comparative effects of hypertension and nicotine on injury-induced myointimal thickening. **Surgery**, **102**: 409-415, 1987.
- LAKIER, J.B. - Smoking and cardiovascular disease. **Am. J. Med.**, **93**(Suppl. 1A): S8-S12, 1992.

- LASSILA, R.; SEYBERTH, H.W.; HAAPANEN, A.; SCHQEER, H.; KOSKENVUO, M.; LAUSTIOLA, K.E. - Vasoactive and atherogenic effects of cigarette smoking: a study of monozygotic twins discordant for smoking. **Br. Med. J.**, **297**: 955-957, 1988.
- LAUSTIOLA, K.E.; LASSILA, R.; NURMI, A.K. - Enhanced activation of renin-angiotensin-aldosterone system in chronic cigarette smokers: a study of monozygotic twin pairs discordant for smoking. **Clin. Pharmacol. Ther.**, **44**: 426-430, 1988.
- LIN, S.J.; HONG, C.Y.; CHANG, M.S.; CHIANG, B.N.; CHIEN, S. - Long-term nicotine exposure increases aortic endothelial cell death and enhances transendothelial macromolecular transport in rats. **Arterioscler. Thromb.**, **12**:1305-1312, 1992.
- LIN, S.Y. & GOODFRIEND, T.L. - Angiotensin receptors. **Am. J. Physiol.**, **218**: 1319-1328, 1970.
- LINZ, W.; WOHLFART, P.; SCHÖLKENS, B.A.; MALINSKI, T.; WIEMER, G. - Interactions among ACE, kinins and NO. **Cardiovasc. Res.**, **43**: 549-561, 1999.
- MACKAY, D. - A generally useful modification of ALLFIT that facilitates the fitting of null equations to dose-response-curves. **Trends Pharmacol. Sci.**, **9**: 121-122, 1988.
- MACKLIN, K.D.; MAUS, A.D.; PEREIRA, E.F.; ALBUQUERQUE, E.X.; CONTI-FINE, B.M. - Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **287**: 435-439, 1998.
- MANCINI, G.B.; HENRY, G.C.; MACAYA, C.; O'NEILL, B.J.; PUCILLO, A.L.; CARERE, R.G.; WARGOVICH, T.J.; MUDRA, H.; LUSCHER, T.F.; KLIBANER, M.I.; HABER, H.E.; UPRICHARD, A.C.; PEPINE, C.J.; PITT, B. - Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) study. **Circulation**, **94**: 258-265, 1996.
- MAYHAN, W.G. & PATEL, K.P. - Effect of nicotine on endothelium-dependent arteriolar dilatation *in vivo*. **Am. J. Physiol.**, **272**: H2337-H2342, 1997.

- MAYHAN, W.G. & SHARPE, G.M. - Superoxide dismutase restores endothelium-dependent arteriolar dilatation during acute infusion of nicotine. **J. Appl. Physiol.**, **85**: 1292-1298, 1998.
- MAYHAN, W.G.; SHARPE, G.M.; ANDING, P. - Agonist-induced release of nitric oxide during acute exposure to nicotine. **Life Sci.**, **65**: 1829-1837, 1999.
- MCVEIGH, G.E.; LEMAY, L.; MORGAN, D.; COHN, J.N. - Effects of long-term cigarette smoking on endothelium-dependent responses in humans. **Am. J. Cardiol.**, **78**: 668-672, 1996.
- MOMBOULI, J.V.; ILLIANO, S.; NAGAO, T.; SCOTT-BURDEN, T.; VANHOUTTE, P.M. - Potentiation of endothelium-dependent relaxations to bradykinin by angiotensin I converting enzyme inhibitors in canine coronary artery involves both endothelium-derived relaxing and hyperpolarizing factors. **Circ. Res.**, **71**: 137-144, 1992.
- MOMBOULI, J.V. & VANHOUTTE, P.M. - Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. **J. Mol. Cell. Cardiol.** **31**: 61-74, 1999.
- MORENO, Jr. H.; CHALON, S.; URAE, A.; TANGPHAO, O.; ABIOSE, A.K.; HOFFMAN, B.B.; BLASCHKE, T.F. - Endothelial dysfunction in human hand veins is rapidly reversible after smoking cessation. **Am. J. Physiol.**, **275**: H1040-H1045, 1998.
- MORENO, Jr. H.; NATHAN, L.P.; COSTA, S.K.P.; METZE, K.; ANTUNES, E.; ZATZ, R.; de NUCCI, G. - Enalapril does not prevent the myocardial ischemia caused by the chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **Eur. J. Pharmacol.**, **287**: 93-96, 1995.
- OKAMURA, T. & NOBORU, T. - Mechanism underlying nicotine-induced relaxation in dog saphenous arteries. **Eur. J. Pharmacol.**, **263**: 85-91, 1994.
- OTA, Y.; KUGIYAMA, K.; SUGIYAMA, S.; OHGUSHI, M.; MATSUMURA, T.; DOI, H.; OGATA, N.; OKA, H.; YASUE, H. - Impairment of endothelium-dependent relaxation of rabbit aortas by cigarette smoke extract - role of free radicals and attenuation by captopril. **Atherosclerosis**, **131**: 195-202, 1997.

- PALMER, R.M.J.; ASHTON, D.S.; MONCADA, S. - Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, **333**: 664-666, 1988.
- PONTEIRI, V.; LOPES, O.U.; FERREIRA, S.H. - Hypotensive effect of captopril. Role of bradykinin and prostaglandin like substances. **Hypertension**, **15**(Suppl.1):155-158, 1990.
- RAPAPORT, R.M.; RAZNIN, M.B.; MURAD, F. - Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. **Nature**, **306**: 174-176, 1983.
- REGOLI, D.; ALLOGHO, S.N.; RIZZI, A.; GOBEIL, F.J. - Bradykinin receptors and their antagonists. **Eur. J. Pharmacol.** **348**: 1-10, 1998.
- REGOLI, D. & BARABE, J. - Pharmacology of bradykinin and related kinins. **Pharmac. Rev.** **32**: 1-46, 1980.
- ROBERTSON, D.; TSENG, C.J.; APPALSAMY, M. - Smoking and mechanisms of cardiovascular control. **Am. Heart J.** **115**: 258-263, 1988.
- RODRIGO, E.; MAESO, R.; MUNOZ-GARCIA, R.; NAVARRO-CID, J.; RUILOPE, L.M.; CACHOFEIRO, V.; LAHERA, V. - Endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: consequences of chronic treatment with losartan or captopril. **J. Hypertens.**, **15**: 613-618, 1997.
- RUBENSTEIN, I.; YONG, T.; RENNARD, S.I.; MAYHAN, W.G. - Cigarette smoke extract attenuates endothelium-dependent arteriolar dilatation *in vivo*. **Am. J. Physiol.**, **261**: H1913-H1918, 1991.
- SANDER, M.; HANSEN, P.G.; VICTOR, R.G. - Sympathetically mediated hypertension caused by chronic inhibition of nitric oxide. **Hypertension**, **26**: 691-695, 1995.
- SCHULTZ, P. J & RAIJ, L. - Effects of antihypertensive agents on endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations. **Br. J. Pharmacol.**, **28**: 151S-157S, 1989.

- SHARMA, J.N. - Does kinin mediate the hypotensive action of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors? **Gen. Pharmacol.**, **21**: 451-457, 1990.
- SU, C. - Actions of nicotine and smoking on circulation. **Pharmacol. Ther.** **17**: 129-141, 1982.
- SU, Y.; HAN, W.; GIRALDO, C.; DE LI, Y.; BLOCK, E.R. - Effect of cigarette smoke extract on nitric oxide synthase in pulmonary artery endothelial cells. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.** **19**: 819-825, 1998.
- SUGIYAMA, Y.; YOTSUMOTO, H.; OKABE, T.; TAKAKU, F. - Measurement of angiotensin-converting enzyme activity in intact human alveolar macrophages and effect of smoking. **Respiration**, **53**: 153-157, 1988.
- SUTHERLAND, G.; RUSSEL, M.A.H.; STAPLETON, J.; FEYERABEND, C.; FERNO, O. - Nasal nicotine spray: a rapid nicotine delivery system. **Psychopharmacology**, **108**: 512-518, 1992.
- TANUS-SANTOS, J. E.; SAMPAIO, R. C.; HYSLOP, S.; FRANCHINI, K. G.; MORENO, Jr. H. - Endothelin ET_A receptor antagonism attenuates the pressor effects of nicotine in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, **396**: 33-37, 2000.
- THYBERG, J. - Effects of nicotine on phenotypic modulation and initiation of DNA synthesis in cultured arterial smooth muscle cells. **Virchows. Arch. B. Cell. Pathol.**, **52**: 25-32, 1986.
- TURKER, R.K.; ERCAN, Z.S.; ERSOY, A.; ZENGIL, H. - Inhibition by nicotine of the vasodilator effect of bradykinin: evidence for a prostacyclin-dependent mechanism. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, **257**: 94-103, 1982.
- VALLATON, M.B. - The renin-angiotensin system. **Trends Pharmacol. Sci.**, **8**: 69-74, 1987.
- VAN DEN BUUSE, M. & KERKHOFF, J. - Interaction of bradykinin and angiotensin in the regulation of blood pressure in conscious rats. **Gen. Pharmac.**, **22**: 759-762, 1991.

- VANE, J.R.; ANGGARD, E.E.; BOTTING, R.M. - Regulatory functions of the vascular endothelium. **N. Engl. J. Med.**, **323**: 27-36, 1990.
- VILLABLANCA, A.C. - Nicotine stimulates DNA synthesis and proliferation in vascular endothelial cells *in vitro*. **J. Appl. Physiol.** **84**: 2089-2098, 1998.
- WIEMER, G.; SCHÖLKENS, B.A.; BECKER, R.H.A.; BUSSE, R. - Ramiprilat enhances endothelial autacoid formation by inhibiting breakdown of endothelium-derived bradykinin. **Hypertension**, **18**: 558-563, 1991.
- WOOD, A.J.J. - Angiotensin receptors and their antagonists. **Drug. Therapy**, **334**: 1649-1654, 1996.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

9. ANEXOS

Anexo 1. Valores individuais de peso corporal, expressos em gramas, do grupo CONTROLE durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	240	265	286
rato 2	236	251	278
rato 3	228	259	278
rato 4	248	270	297
rato 5	271	292	320
rato 6	266	280	300
rato 7	267	280	296
rato 8	254	281	303
rato 9	257	265	280
rato 10	270	288	300
rato 11	264	297	317
rato 12	265	292	320
rato 13	221	250	280
rato 14	207	225	253
rato 15	200	225	240
rato 16	258	290	315

Anexo 2. Valores individuais de peso corporal, expressos em gramas, do grupo ENALAPRIL durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	230	250	278
rato 2	220	248	274
rato 3	240	255	280
rato 4	230	250	260
rato 5	240	262	280
rato 6	255	270	300
rato 7	247	276	295
rato 8	240	258	270
rato 9	255	278	290
rato 10	240	250	271
rato 11	230	255	270
rato 12	252	270	290
rato 13	263	292	315
rato 14	214	240	271
rato 15	260	290	325
rato 16	200	247	270

Anexo 3. Valores individuais de peso corporal, expressos em gramas, do grupo LOSARTAN durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	240	281	300
rato 2	250	276	310
rato 3	245	280	296
rato 4	230	284	300
rato 5	250	290	315
rato 6	260	274	296
rato 7	259	280	300
rato 8	247	265	285
rato 9	250	265	285
rato 10	250	280	310
rato 11	230	258	291
rato 12	220	267	292
rato 13	240	281	300
rato 14	250	284	315
rato 15	240	284	300

Anexo 4. Valores individuais de pressão arterial de cauda, expressos em mmHg, do grupo **CONTROLE** durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	116	110	110
rato 2	110	110	110
rato 3	110	110	100
rato 4	116	110	110
rato 5	110	110	110
rato 6	116	110	100
rato 7	118	110	110
rato 8	100	110	110
rato 9	114	110	110
rato 10	110	110	110
rato 11	113	100	110
rato 12	108	110	112
rato 13	116	110	100
rato 14	100	110	110
rato 15	110	110	110
rato 16	116	110	110

Anexo 5. Valores individuais de pressão arterial de cauda, expressos em mmHg, do grupo ENALAPRIL durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	110	100	103
rato 2	118	100	114
rato 3	120	110	118
rato 4	116	110	100
rato 5	110	100	110
rato 6	120	115	120
rato 7	116	110	115
rato 8	110	100	110
rato 9	110	100	110
rato 10	110	100	110
rato 11	108	110	110
rato 12	110	103	110
rato 13	102	112	110
rato 14	120	110	120
rato 15	110	110	100
rato 16	118	112	110

Anexo 6. Valores individuais de pressão arterial de cauda, expressos em mmHg, do grupo LOSARTAN durante as três semanas de estudo

	Basal	semana 1	semana 2
rato 1	118	110	115
rato 2	116	110	110
rato 3	117	110	112
rato 4	110	100	110
rato 5	110	100	110
rato 6	117	100	117
rato 7	112	110	115
rato 8	118	110	110
rato 9	110	110	100
rato 10	118	110	120
rato 11	116	110	110
rato 12	116	100	110
rato 13	116	110	110
rato 14	117	110	118
rato 15	116	110	114

Anexo 7. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo **CONTROLE**. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

pré-salina												pós-salina					
	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg			
rato 1	3,5	9,0	14,5	20,0	54,0	76,0	78,5	0,0	4,5	4,5	11,0	39,0	55,0	71,0			
rato 2	2,0	5,0	4,0	10,0	55,5	75,0	82,0	1,0	2,5	5,0	20,0	44,0	59,0	76,0			
rato 3	0,0	7,0	10,0	24,5	57,0	73,0	78,0	0,0	10,0	27	31,5	58,0	61,0	71,0			
rato 4	0,0	2,0	4,0	21,0	40,5	72,0	76,0	0,0	1,5	6,0	16,5	32,5	62,0	69,0			
Média $\pm$ EPM	1,4 $\pm$ 1,7	5,75 $\pm$ 3,0	8,0 $\pm$ 5,0	19,0 $\pm$ 6,3	51,75 $\pm$ 7,6	74,0 $\pm$ 1,8	78,6 $\pm$ 2,5	0,25 $\pm$ 0,50	4,6 $\pm$ 3,8	10,6 $\pm$ 10,9	19,75 $\pm$ 8,7	43,4 $\pm$ 10,8	59,25 $\pm$ 3,0	71,75 $\pm$ 3,0			

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 8. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo **CONTROLE**. Os valores abaixo da tabela representam as médias±erro padrão da média.

pré-nicotina												pós-nicotina					
	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg			
rato 1	1,0	1,0	2,0	16,0	60,0	74,0	78,0	1,0	2,0	8,0	22,0	47,0	60,0	67,0			
rato 2	1,0	2,0	10,0	21,0	45,0	59,0	60,0	0,0	13,0	19,0	30,0	53,0	62,0	64,0			
rato 3	0,0	1,0	11,0	37,0	67,0	91,0	68,0	0,0	2,5	6,0	24,0	34,0	60,0	66,0			
rato 4	2,0	3,0	13,0	22,0	65,5	82,0	87,0	1,0	4,0	3,5	24,0	61,0	60,0	68,0			
rato 5	2,5	5,0	11,0	24,0	46,0	64,0	69,0	2,0	5,5	20,0	31,5	50,0	60,0	64,0			
rato 6	2,0	6,0	11,0	22,0	45,0	59,0	61,0	2,0	6,0	7,0	15,0	50,0	60,0	66,0			
rato 7	0,0	2,0	5,0	10,0	43,0	54,0	65,0	0,0	1,5	8,0	36,0	50,0	68,0	70,0			
rato 8	1,0	3,0	4,0	33,0	65,0	67,0	79,0	0,0	1,0	3,0	37,0	43,0	63,0	64,0			
rato 9	1,0	2,5	6,0	21,0	50,0	72,0	74,0	3,0	8,0	12,0	42,0	43,0	56,0	68,0			
rato 10	0,0	2,0	3,0	12,0	52,5	74,0	75,0	2,0	4,5	11,0	38,0	55,0	62,5	67,0			
rato 11	1,0	3,0	3,5	19,0	54,0	70,0	75,0	2,0	4,0	14,0	27,0	48,0	53,0	63,0			
rato 12	1,0	4,0	8,0	44,0	61,0	72,0	70,0	0,0	1,0	8,0	20,0	37,0	54,0	55,0			
Média ± EPM	1,0 ± 0,77	3,0 ± 1,44	7,0 ± 3,65	23,0 ± 9,5	54,0 ± 8,5	70,0 ± 9,8	72,0 ± 7,5	1,0 ± 1,03	4,0 ± 3,31	9,95 ± 5,24	29,0 ± 8,0	47,0 ± 7,19	60,0 ± 4,0	65,0 ± 3,65			

Anexo 9. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo ENALAPRIL. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

pré-salina										pós-salina					
	salina	BK 0,1 μ g	BK 0,4 μ g	BK 1,6 μ g	BK 6,3 μ g	BK 25 μ g	BK 100 μ g	salina	BK 0,1 μ g	BK 0,4 μ g	BK 1,6 μ g	BK 6,3 μ g	BK 25 μ g	BK 100 μ g	
rato 1	0,0	20,0	31,0	47,0	48,0	48,0	48,0	0,0	20,0	47,0	63,0	57,0	63,0	63,0	
rato 2	0,0	20,0	33,0	52,0	50,0	50,0	50,0	0,0	20,0	49,0	56,0	55,0	55,0	55,0	
rato 3	0,0	20,0	39,0	58,0	59,0	59,0	59,0	0,0	20,0	53,0	68,0	81,0	81,0	81,0	
rato 4	0,0	20,0	53,0	75,0	79,0	79,0	79,0	0,0	20,0	48,0	57,0	59,0	59,0	59,0	
rato 5	0,0	20,0	31,0	52,0	59,0	59,0	59,0	0,0	20,0	46,0	58,0	60,0	60,0	60,0	
Média $\pm$ EPM	0,0 $\pm$ 0,0	20,0 $\pm$ 0,0	37,0 $\pm$ 9,3	57,0 $\pm$ 10,9	59,0 $\pm$ 12,3	59,0 $\pm$ 12,3	59,0 $\pm$ 12,3	0,0 $\pm$ 0,0	20,0 $\pm$ 0,0	48,0 $\pm$ 2,7	60,0 $\pm$ 5,0	62,0 $\pm$ 10,5	64,0 $\pm$ 10,0	64,0 $\pm$ 10,0	

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 10. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo ENALAPRIL. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

pré-nicotina											pós-nicotina					
	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg		
rato 1	1,5	10,5	33,5	60,0	55,0	49,0	43,0	4,0	14,0	27,5	41,5	46,0	44,5	45,0		
rato 2	0,0	19,0	26,0	36,0	45,0	50,0	42,0	1,0	16,0	27,5	33,5	36,0	33,0	30,5		
rato 3	7,0	20,5	32,5	50,0	57,0	57,5	52,0	1,0	16,0	20,5	38,0	32,5	31,0	47,5		
rato 4	4,0	25,0	49,5	53,5	52,0	54,0	46,5	0,0	23,0	38,5	39,5	40,0	43,5	46,5		
rato 5	0,5	27,5	70,0	81,0	64,0	60,0	76,0	0,0	28,0	30,0	39,0	35,0	40,0	40,0		
rato 6	5,0	44,0	68,7	68,0	74,0	66,5	57,0	4,5	30,0	46,8	50,0	43,5	38,0	42,0		
rato 7	0,0	13,0	32,0	51,0	54,0	53,0	53,0	0,0	21,0	29,0	37,0	40,0	35,6	38,0		
rato 8	6,0	16,0	44,5	65,7	72,0	69,0	55,0	4,0	24,0	25,0	34,0	40,5	40,5	41,0		
rato 9	1,0	11,0	30,0	47,0	45,0	39,0	46,0	0,0	19,5	36,0	51,0	55,5	44,0	61,5		
rato 10	2,5	33,5	70,6	81,0	67,0	62,0	78,0	3,0	12,0	27,0	35,0	46,0	36,0	43,0		
rato 11	1,0	21,0	39,0	50,0	58,0	58,5	56,0	4,0	14,0	21,5	27,0	33,0	25,0	28,0		
Média $\pm$ EPM	2,0 $\pm$ 2,5	22,0 $\pm$ 10,18	45,0 $\pm$ 17,15	58,0 $\pm$ 14,2	58,0 $\pm$ 9,8	56,0 $\pm$ 8,5	55,0 $\pm$ 12,0	2,0 $\pm$ 1,92	19,0 $\pm$ 6,0	30,0 $\pm$ 7,74	38,0 $\pm$ 7,0	40,0 $\pm$ 6,82	37,0 $\pm$ 6,05	42,0 $\pm$ 9,0		

Anexo 11. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo LOSARTAN. Os valores abaixo da tabela representam as médias±erro padrão da média.

pré-salina										pós-salina					
	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	BK
rato 1	0,0	6,0	8,0	15,0	30,0	65,0	58,0	1,0	2,0	3,5	15,0	20,5	35,0	46,0	
rato 2	0,0	18,0	25,0	33,0	76,0	90,0	90,0	1,0	6,0	10,0	19,0	51,0	70,0	75,0	
rato 3	0,0	4,0	6,0	18,0	38,0	56,0	64,0	1,0	2,5	6,0	21,0	50,0	72,0	74,0	
rato 4	0,0	18,0	25,0	24,0	68,0	82,0	82,0	0,0	6,5	9,0	13,5	35,0	58,0	62,0	
rato 5	0,0	3,0	14,0	22,0	66,0	80,0	80,0	1,0	2,5	6,0	20,0	51,0	90,0	96,0	
Média ± EPM	0,0 ± 0,0	10,0 ± 7,5	15,0 ± 9,0	22,0 ± 6,8	55,0 ± 20,3	74,0 ± 13,8	75,0 ± 13,3	1,0 ± 0,8	4,0 ± 2,16	7,0 ± 2,6	18,0 ± 3,3	41,0 ± 13,5	65,0 ± 20,3	70,0 ± 18,4	

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 12. Valores individuais da variação da pressão arterial média da curva dose-resposta à bradicinina, expressos em mmHg, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo LOSARTAN. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

pré-nicotina										pós-nicotina					
	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	salina	BK 0,1 µg	BK 0,4 µg	BK 1,6 µg	BK 6,3 µg	BK 25 µg	BK 100 µg	
rato 1	0,0	6,5	9,0	13,5	35,0	58,0	62,0	1,0	4,0	7,7	16,0	32,0	51,0	60,0	
rato 2	1,0	6,0	8,0	13,5	30,0	52,0	60,0	1,0	2,0	3,5	15,0	20,5	35,0	46,0	
rato 3	3,0	18,0	41,0	49,0	58,0	61,0	60,0	0,0	6,0	26,0	28,0	28,5	56,0	50,0	
rato 4	0,0	9,0	11,0	32,0	46,0	56,0	47,0	3,0	10,0	14,0	24,0	33,0	40,0	28,0	
rato 5	3,0	7,0	6,0	13,0	52,0	70,0	71,0	1,0	3,0	6,0	18,5	49,0	57,0	67,5	
rato 6	3,5	5,5	9,5	17,0	33,0	54,0	65,0	1,5	4,5	6,0	18,0	38,0	55,5	63,5	
rato 7	3,0	8,0	23,0	24,5	35,0	47,5	51,5	1,0	14,0	18,5	31,0	47,0	50,0	56,0	
rato 8	2,0	8,0	16,0	33,5	62,5	67,0	71,0	3,0	8,0	18,5	34,5	51,0	66,0	70,0	
rato 9	1,0	6,0	10,0	19,0	51,0	70,0	75,0	1,5	6,0	10,0	18,0	30,0	42,0	52,0	
rato 10	0,0	7,5	11,0	14,5	52,0	69,0	72,0	0,0	3,0	6,5	19,0	50,0	57,0	67,0	
Média $\pm$ EPM	1,0 $\pm$ 1,4	8,0 $\pm$ 3,4	14,0 $\pm$ 10,0	23,0 $\pm$ 11,0	45,0 $\pm$ 11,0	60,0 $\pm$ 8,0	63,0 $\pm$ 9,0	1,0 $\pm$ 1,0	6,0 $\pm$ 3,5	11,0 $\pm$ 7,0	22,0 $\pm$ 6,0	38,0 $\pm$ 10,0	51,0 $\pm$ 9,0	56,0 $\pm$ 12,0	

Anexo 13. Valores individuais do E_{max} , ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo CONTROLE. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-salina			pós-salina		
	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$
Rato 1	-79	4,0	0,62	-74	7,0	0,82
Rato 2	-80	4,4	0,64	-81	6,0	0,77
Rato 3	-80	3,2	0,49	-76	7,2	0,85
Rato 4	-82	5,5	0,73	-76	1,7	0,22

Média	-80,0	4,3	0,6	-76,0	5,5	0,7
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	1,3	0,9	0,1	3,0	2,6	0,3

Anexo 14. Valores individuais do E_{max} , ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo CONTROLE. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-nicotina			pós-nicotina		
	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$
rato 1	-77	3,3	0,52	-68	3,0	0,50
rato 2	-62	2,7	0,43	-70	1,7	0,23
rato 3	-79	1,7	0,23	-64	3,0	0,38
rato 4	-87	3,3	0,52	-65	2,0	0,30
rato 5	-73	3,6	0,55	-67	1,7	0,23
rato 6	-64	3,0	0,46	-64	3,4	0,53
rato 7	-62	4,0	0,62	-71	1,9	0,30
rato 8	-74	1,9	0,27	-64	1,8	0,25
rato 9	-76	3,7	0,57	-69	1,9	0,30
rato 10	-76	4,1	0,61	-66	1,4	0,14
rato 11	-74	3,4	0,53	-64	2,1	0,33
rato 12	-70	1,3	0,10	-58	3,1	0,50

Média	-73	2,7	0,4	-65	2,2	0,4
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	7,4	1,0	0,2	3,4	0,6	0,1

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 15. Valores individuais do E_{max} , ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo ENALAPRIL. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-salina			pós-salina		
	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$
rato 1	-50	0,2	-0,7	-62	0,17	-0,76
rato 2	-52	0,2	-0,7	-56	0,13	-1,87
rato 3	-80	0,2	-0,7	-80	0,25	-0,59
rato 4	-60	0,2	-0,7	-59	0,15	-0,81
rato 5	-60	0,2	-0,7	-60	0,16	-0,77
Média	-60	0,2	-0,7	-64	0,17	-0,7
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	12,0	0,0	0,0	9,6	0,05	0,1

INTECAMT
CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Anexo 16. Valores individuais do E_{max} , ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo ENALAPRIL. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-nicotina			pós-nicotina		
	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$	E_{max} (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$
rato 1	-52	0,30	-0,52	-46	0,30	-0,52
rato 2	-48	0,23	-0,63	-35	0,10	-1,00
rato 3	-56	0,30	-0,52	-46	0,40	-0,40
rato 4	-51	0,10	-1,00	-43	0,01	-2,00
rato 5	-70	0,11	-0,95	-44	0,01	-2,00
rato 6	-67	0,10	-1,00	-55	0,08	-1,09
rato 7	-54	0,30	-0,52	-38	0,12	-0,92
rato 8	-66	0,20	-0,70	-44	0,20	-0,70
rato 9	-45	0,10	-1,00	-41	0,30	-0,52
rato 10	-72	0,20	-0,70	-54	0,20	-0,70
rato 11	-58	0,20	-1,70	-29	0,10	-1,00
Média	-58	0,2	-0,7	-43	0,2	-0,9
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	9,3	0,1	0,2	7,8	0,1	0,5

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 17. Valores individuais do $E_{\max}$, ED_{50} e $\text{Log } ED_{50}$, expressos em mmHg, antes e após a administração de salina 0,1mL, dos animais do grupo LOSARTAN. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-salina			pós salina		
	$E_{\max}$ (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$	$E_{\max}$ (mmHg)	ED_{50} ($\mu\text{g/Kg}$)	$\text{Log } ED_{50}$
rato 1	-64,0	6,0	0,78	-60,0	3,0	0,70
rato 2	-99,0	2,3	0,40	-77,0	4,0	0,60
rato 3	-68,0	5,0	0,69	-76,0	4,0	0,56
rato 4	-91,0	2,9	0,46	-66,0	5,0	0,75
rato 5	-81,0	2,8	0,45	-100,0	6,0	0,76
Média	-80	4,0	0,6	-76	4,4	0,6
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	14,8	1,6	0,1	15,3	1,14	0,1

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 18. Valores individuais do E_{max} , ED_{50} e $Log\ ED_{50}$, expressos em mmHg, antes e após a administração de nicotina 0,1mL, dos animais do grupo LOSARTAN. Os valores abaixo da tabela representam as médias $\pm$ erro padrão da média.

	pré-nicotina			pós nicotina		
	E_{max} (mmHg)	ED_{50} (μ g/Kg)	$Log\ ED_{50}$	E_{max} (mmHg)	ED_{50} (μ g/Kg)	$Log\ ED_{50}$
rato 01	-66,0	5,7	0,75	-67,0	7,1	0,85
rato 02	-67,0	7,9	0,89	-60,0	6,3	0,80
rato 03	-60,0	0,3	-0,52	-62,0	2,6	0,41
rato 04	-56,0	2,3	0,36	-57,0	5,0	0,70
rato 05	-71,0	4,0	0,60	-66,0	3,2	0,50
rato 06	-76,0	9,0	0,95	-67,0	5,0	0,70
rato 07	-62,0	3,1	0,49	-60,0	1,3	0,11
rato 08	-72,0	1,6	0,20	-62,0	2,1	0,33
rato 09	-77,0	4,0	0,60	-65,0	9,0	0,95
rato 10	-72,0	4,0	0,60	-65,0	3,0	0,48
Média	-68	4,2	0,5	-63	4,5	0,6
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EPM	7,0	2,7	0,4	3,4	2,5	0,3

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 19. Tabela de valores médios $\pm$ erro padrão da média de peso corporal, expresso em gramas, dos grupos experimentais durante o período de estudo.

Grupos	Basal	1ª semana	2ª semana
CONTROLE (n=16)	247 $\pm$ 5,7	269 $\pm$ 5,7*	291 $\pm$ 5,0**
ENALAPRIL (n=16)	238 $\pm$ 5,0	262 $\pm$ 4,0*	283 $\pm$ 3,7**
LOSARTAN (n=15)	244 $\pm$ 4,0	276 $\pm$ 2,5*	300 $\pm$ 2,5**

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 20. Tabela de valores médios $\pm$ erro padrão da média da pressão arterial de cauda, expresso em mmHg, dos grupos experimentais durante o período de estudo.

Grupos	Basal	1ª semana	2ª semana
CONTROLE (n=16)	111 $\pm$ 1,3	109 $\pm$ 0,6	108 $\pm$ 1,0
ENALAPRIL (n=16)	113 $\pm$ 1,4	106 $\pm$ 1,4	110 $\pm$ 1,5
LOSARTAN (n=15)	115 $\pm$ 0,8	107 $\pm$ 1,2	112 $\pm$ 1,2

ANEXO 21. Análise estatística do grupo CONTROLE com valores de $p > 0,05$.

Teste “t” de Student pareado:

E_{max} :

- pré vs pós-salina: $p=0,1$;
(t calculado=2,0; t crítico=3,18; graus de liberdade=3);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,0174$;
(t calculado=2,80; t crítico=2,20; ; graus de liberdade=11);

ED_{50}

- pré vs pós-salina: $p=0,2$;
(t calculado=-1,3; t crítico=3,18; graus de liberdade=3);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,1051$;
(t calculado=1,77; t crítico=2,20; ; graus de liberdade=11);

$\log ED_{50}$

- pré vs pós-salina: $p=0,6$;
(t calculado=-0,47; t crítico=3,18; graus de liberdade=3);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,18$;
(t calculado =1,42; t crítico=2,20; ; graus de liberdade=11);

Teste “t” de Student não pareado

CONTROLE: pré salina vs pré-nicotina:

E_{max}

$p=0,07$; (t calculado=1,94; t crítico=2,14; ; graus de liberdade=14);

ED_{50}

$p=0,1486$; (t calculado=1,53; t crítico=2,14; graus de liberdade=14);

$\log ED_{50}$

$p=0,1347$; (t calculado=1,59; t crítico=2,14; ; graus de liberdade=14);

ANEXO 22. Análise estatística do grupo ENALAPRIL com valores de $p > 0,05$.

Teste “t” de Student pareado:

E_{max}

- pré vs pós-salina: $p=0,2$; $t_{obtido}=-1,51$; $t_{crítico}=4,31$; ; graus de liberdade=2;
- pré vs pós-nicotina: $p=0,0006$; $t_{obtido}=4,89$; $t_{crítico}=2,22$; ; graus de liberdade=10;

ED_{50}

- pré vs pós-salina: $p=1,0$;
($t_{calculado}=1,6e-016$; $t_{crítico}=4,31$; ; graus de liberdade=2);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,7560$;
($t_{calculado}=0,319$; $t_{crítico}=2,22$; ; graus de liberdade=10);

log ED_{50}

- pré vs pós-salina: $p=0,8$;
($t_{calculado}=-0,286$; $t_{crítico}=4,31$; ; graus de liberdade=2);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,5$; ($t_{calculado}=0,623$; $t_{crítico}=2,22$; ; graus de liberdade=10);

Teste “t” de Student não pareado

pré salina vs pré-nicotina:

E_{max}

$p=0,3910$; $t_{calculado}=-0,89$; $t_{crítico}=2,17$; ; graus de liberdade=12;

ED_{50}

$p=0,7325$; $t_{calculado}=0,35$; $t_{crítico}=2,17$; ; graus de liberdade=12;

Log ED_{50}

$p=0,4880$; $t_{calculado}=0,715$; $t_{crítico}=2,17$; ; graus de liberdade=12;

ANEXO 23. Análise estatística do grupo LOSARTAN com valores de $p > 0,05$.

Teste “t” de Student pareado:

E_{max}

- pré vs pós-salina: $p=0,7$;
(t calculado =0,379; t crítico=2,77; ; graus de liberdade=4);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,01$; (t calculado =3,17; t crítico=2,26; ; graus de liberdade=9);

ED_{50}

- pré vs pós-salina: $p=0,3$;
(t calculado =1,22; t crítico=2,77; graus de liberdade=4);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,7$;
(t obtido=-0,324; t crítico=2,26; ; graus de liberdade=9);

log ED_{50}

- pré vs pós-salina: $p=0,2$;
(t calculado =1,42; t crítico=2,77; ; graus de liberdade=4);
- pré vs pós-nicotina: $p=0,4661$;
(t calculado=-0,761; t crítico=2,26; ; graus de liberdade=9);

Teste “t” de Student não pareado

pré salina vs pré-nicotina:

E_{max}

$p=0,05$;
(t calculado=2,13; t crítico=2,16; ; graus de liberdade=13);

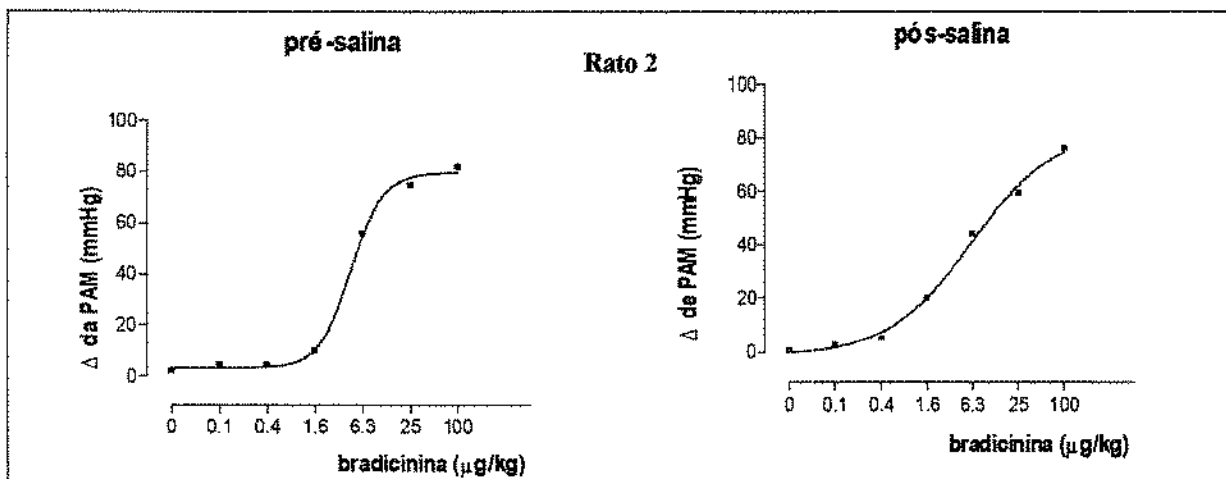
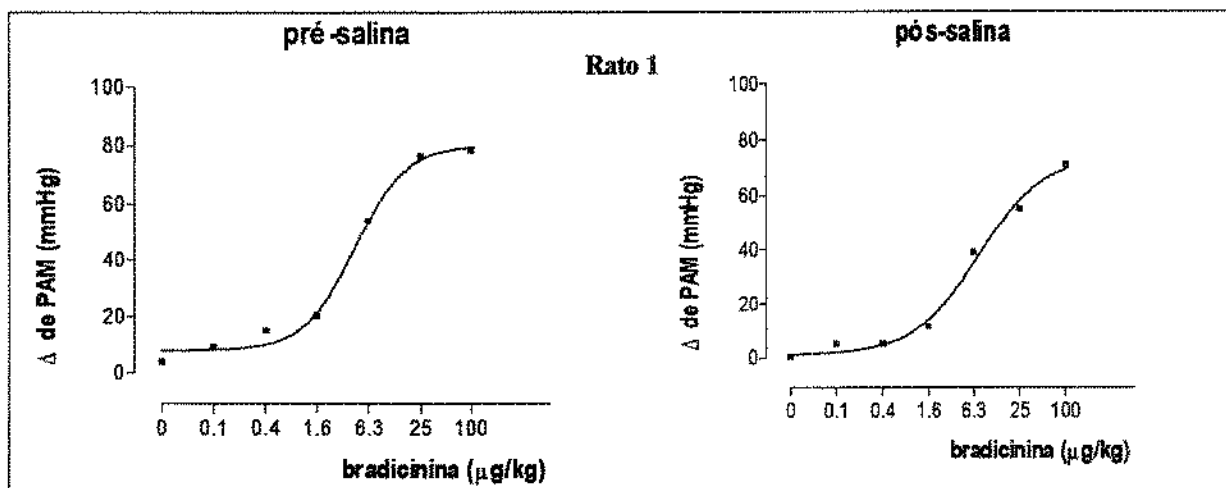
ED_{50}

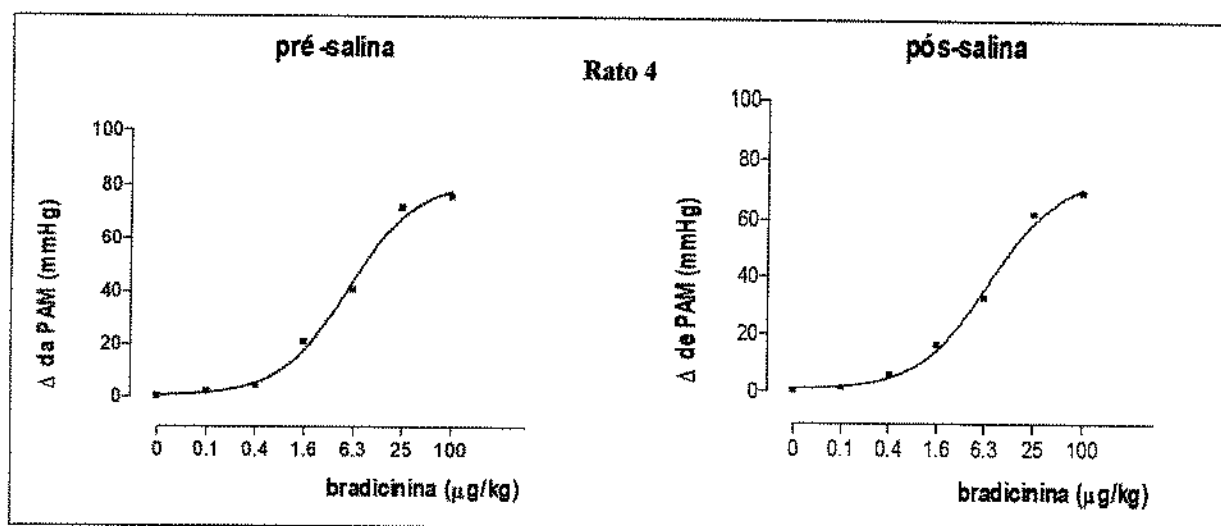
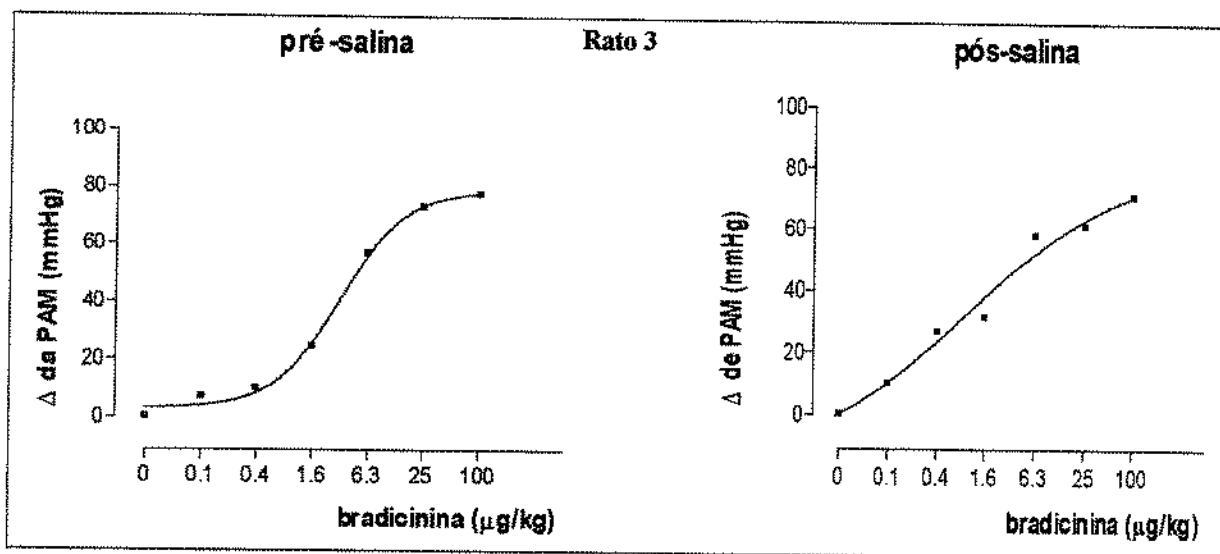
$p=0,05$;
(t calculado=2,26; t crítico=2,16; graus de liberdade=13);

Log ED_{50}

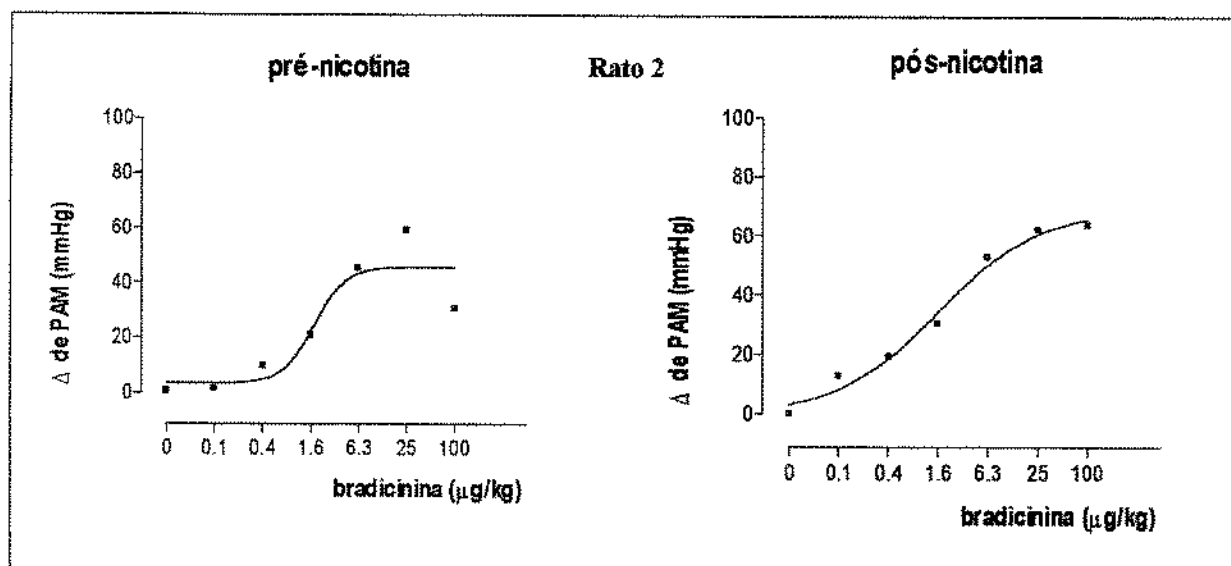
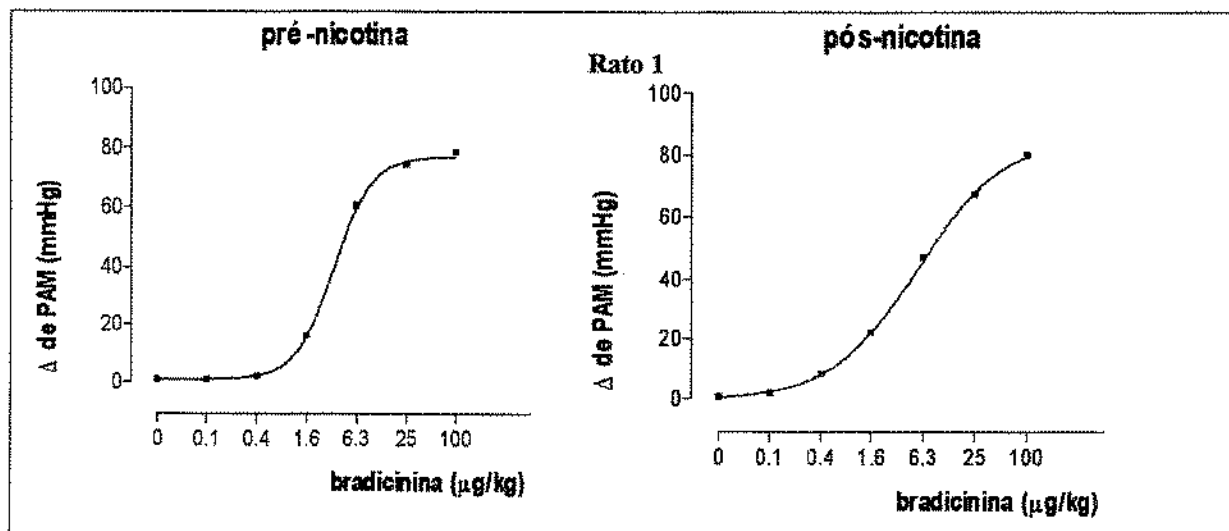
$p=0,03$;
(t obtido=-2,36; t crítico=2,16; graus de liberdade=13);

Anexo 24. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de salina, do grupo CONTROLE.

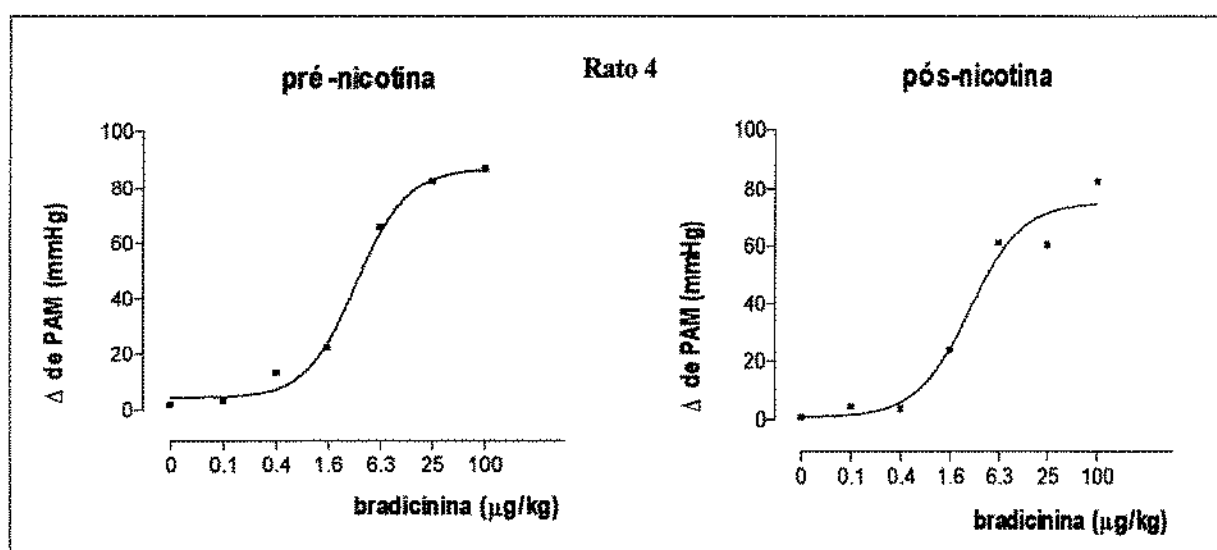
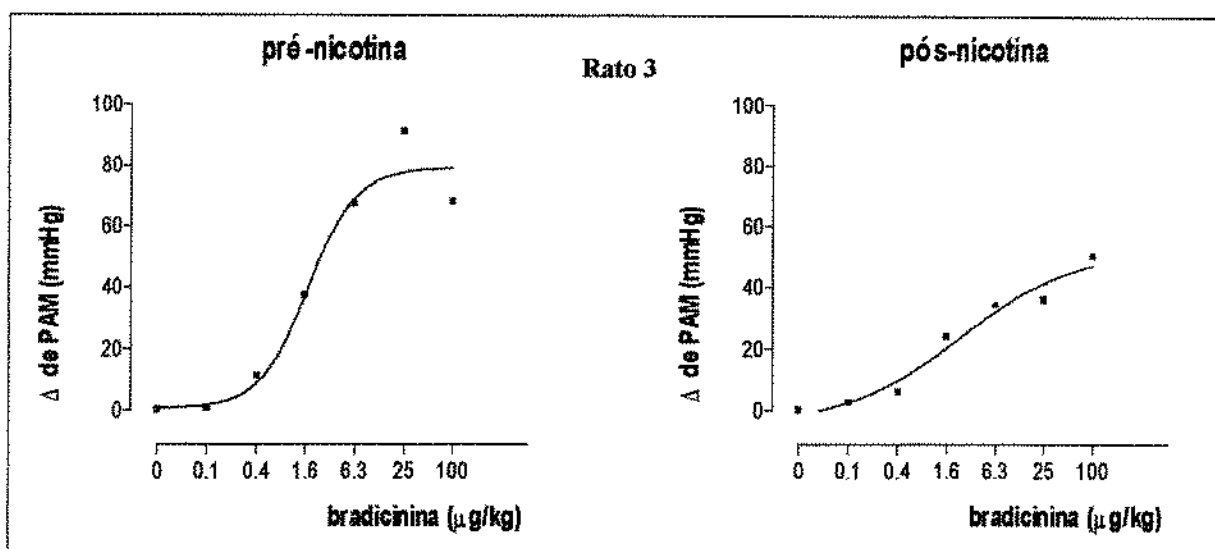




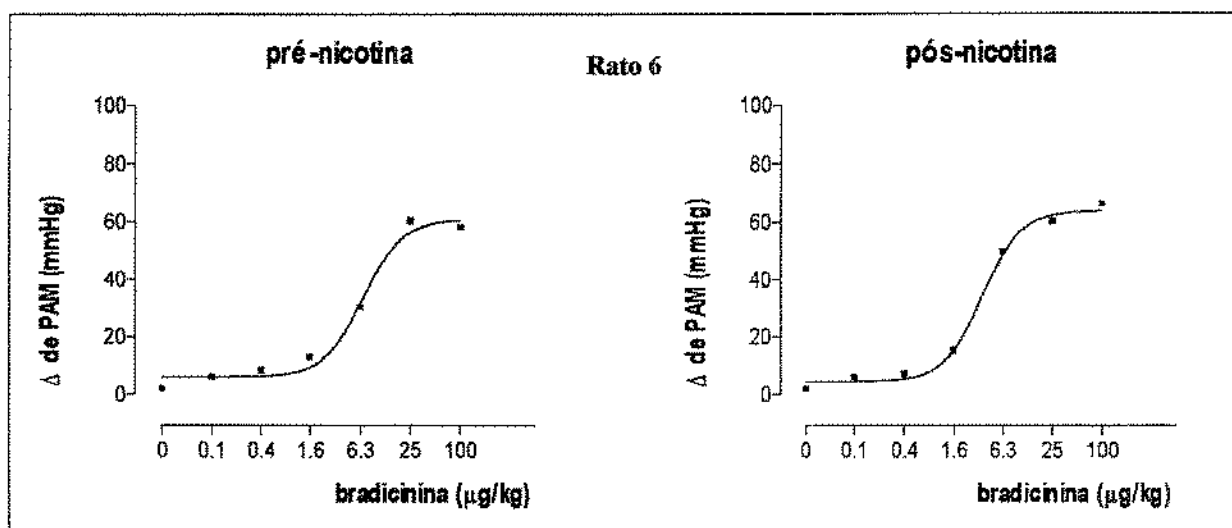
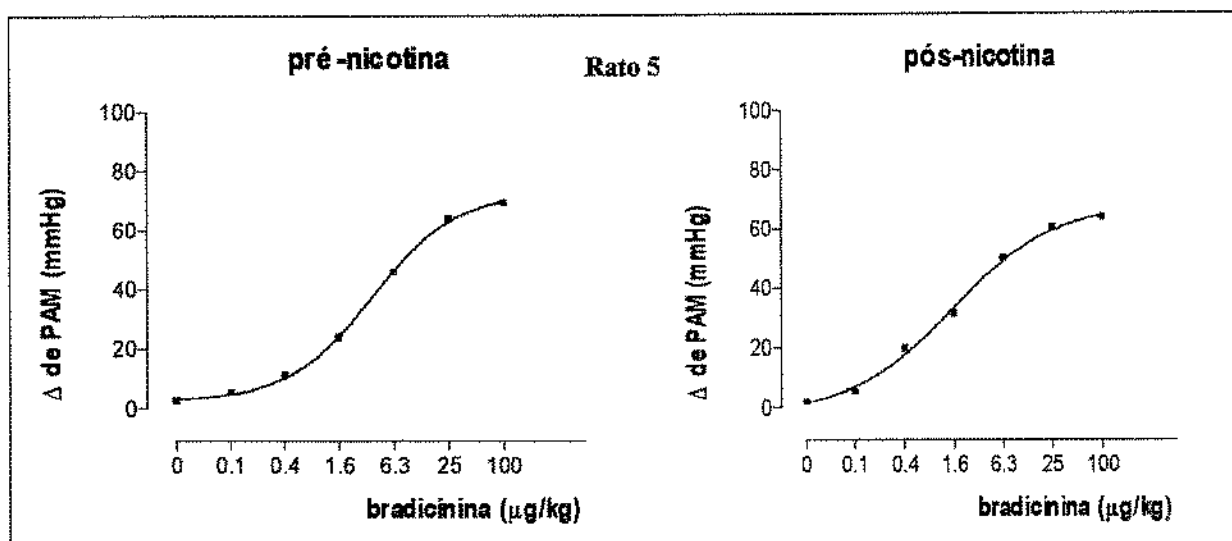
Anexo 25. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de nicotina, do grupo CONTROLE.

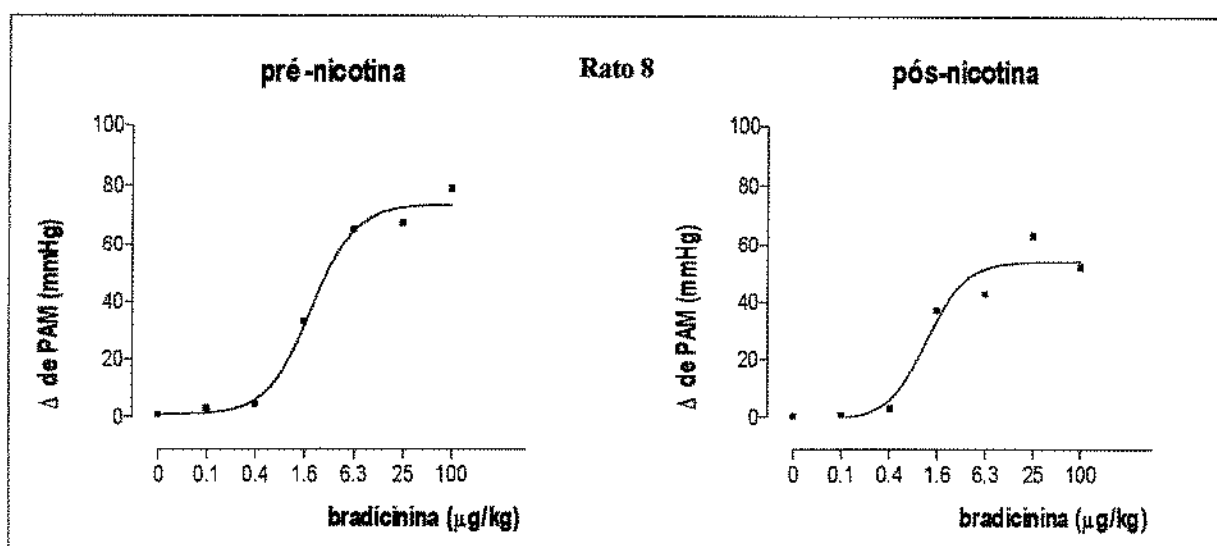
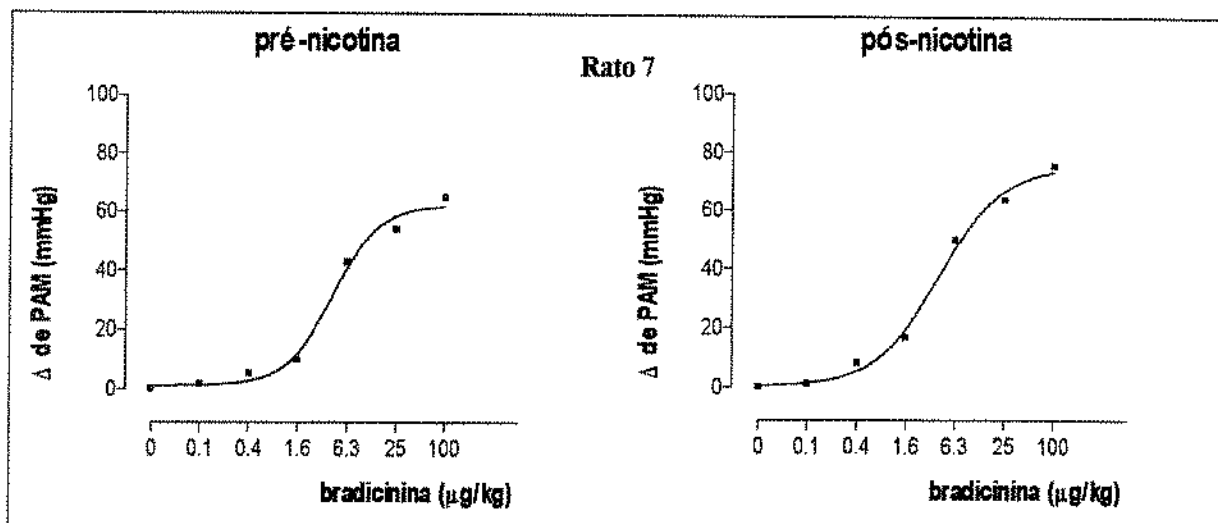


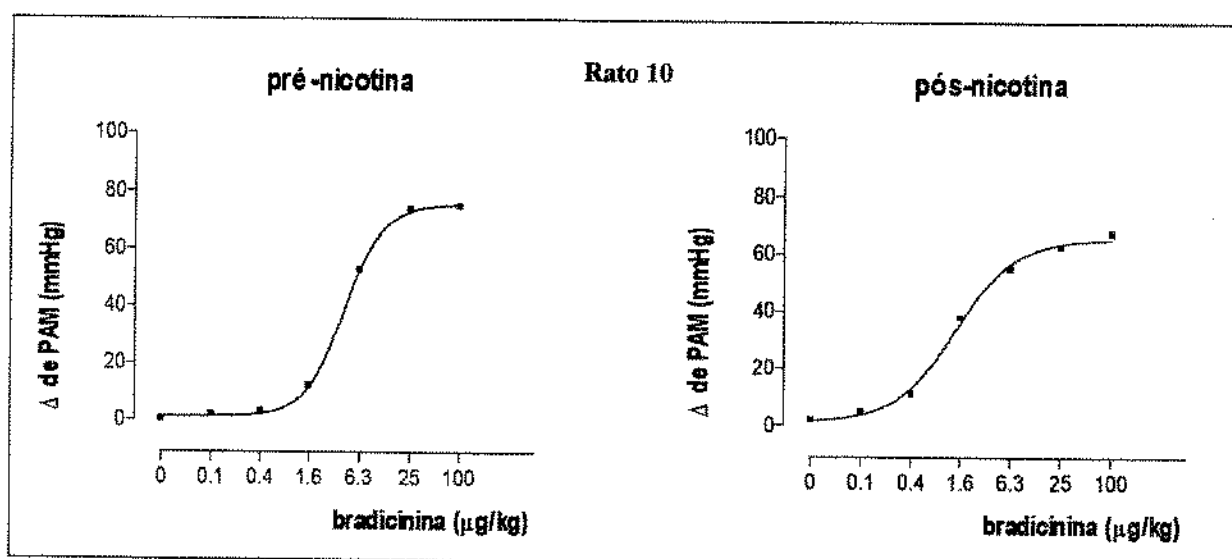
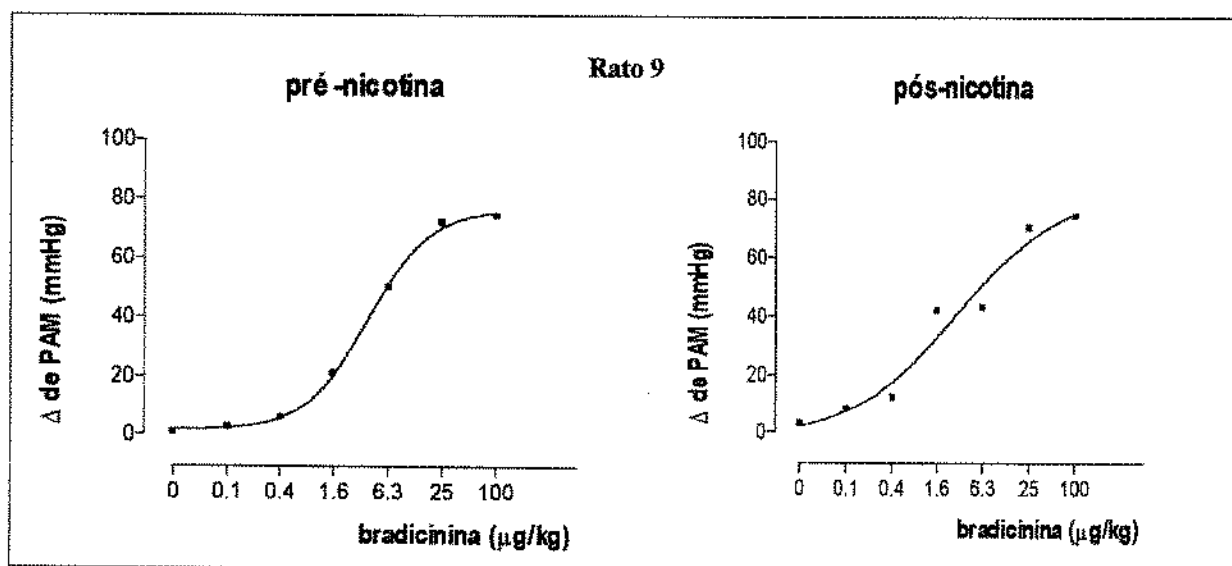
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



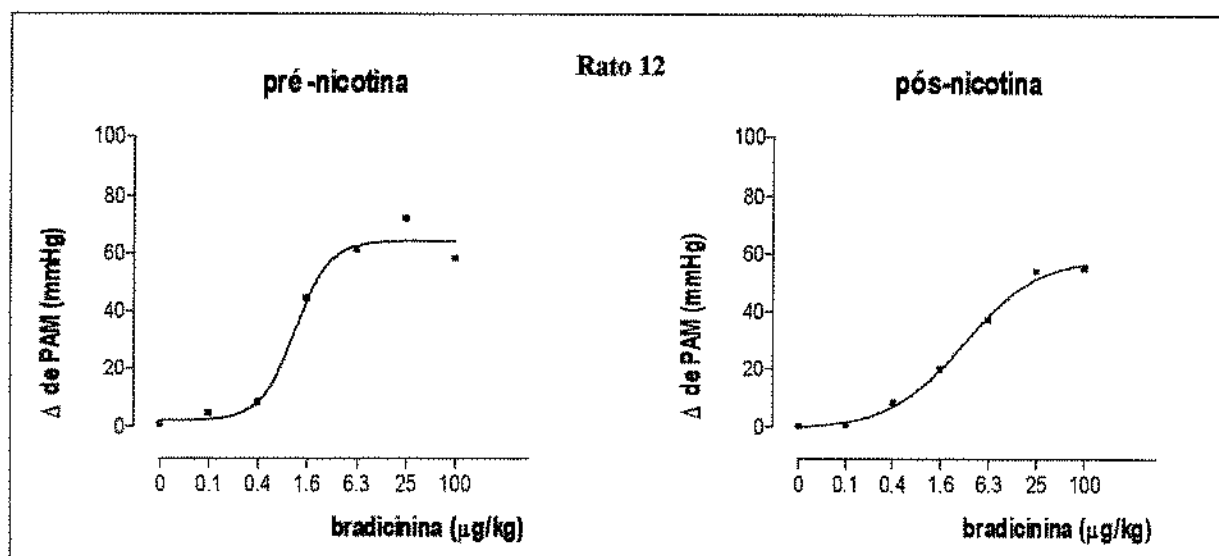
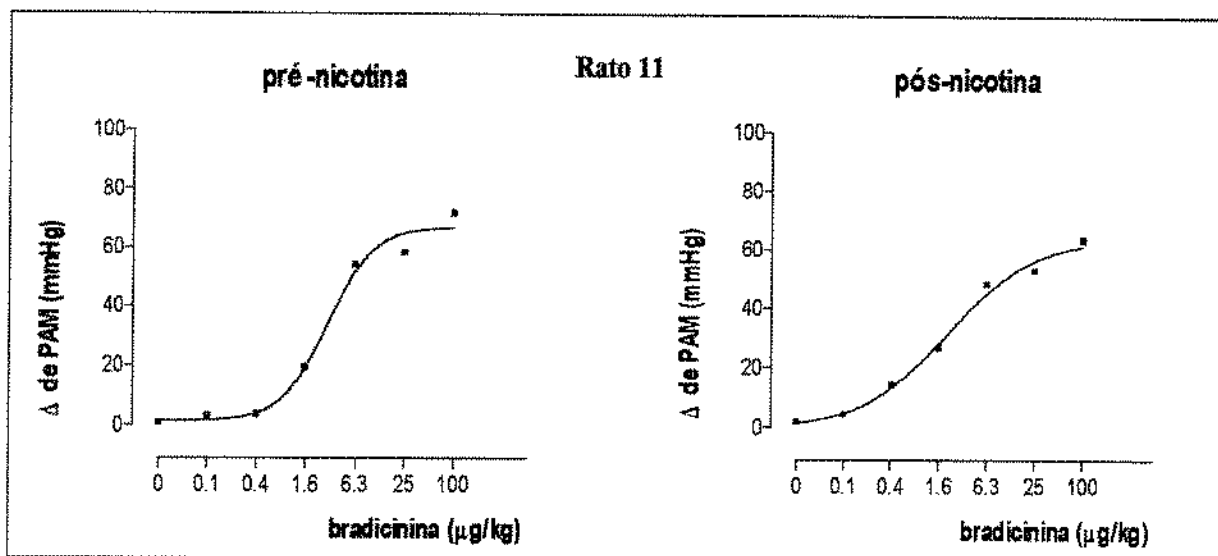
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE





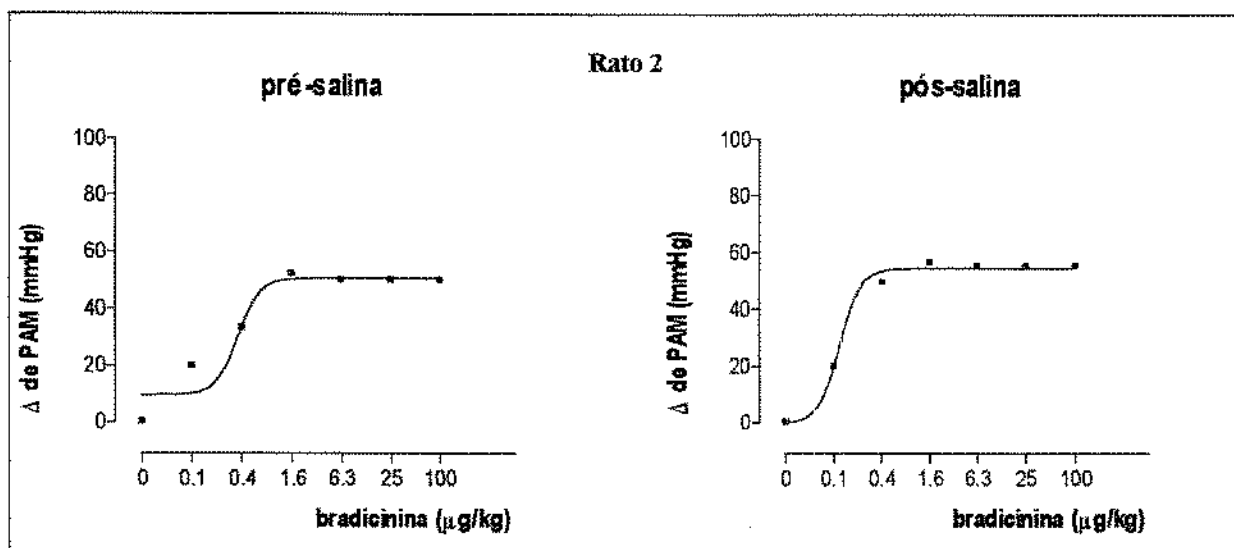
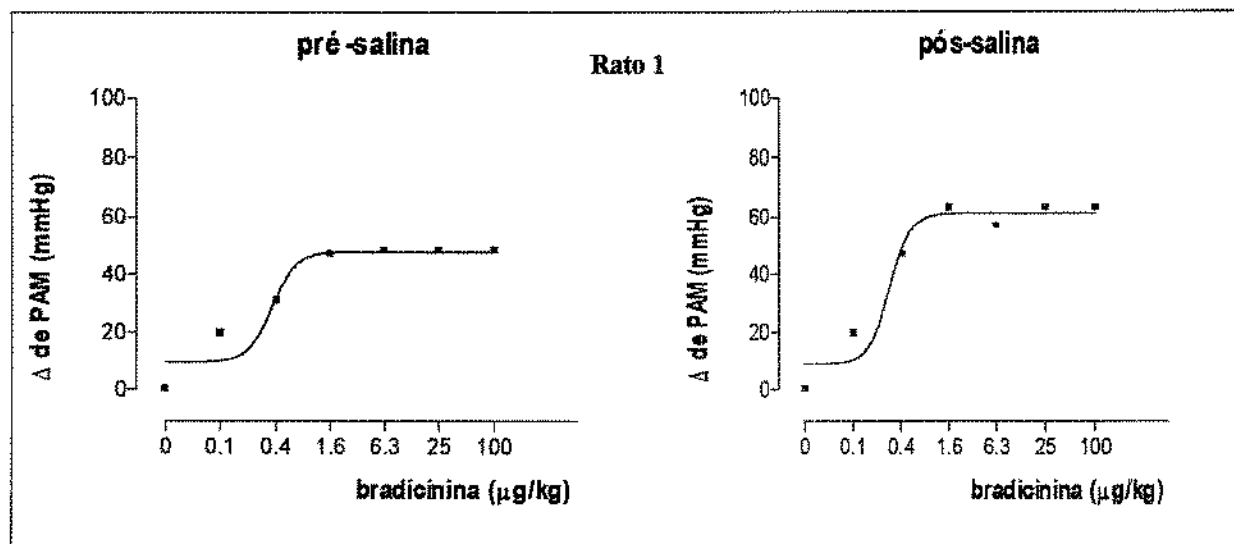


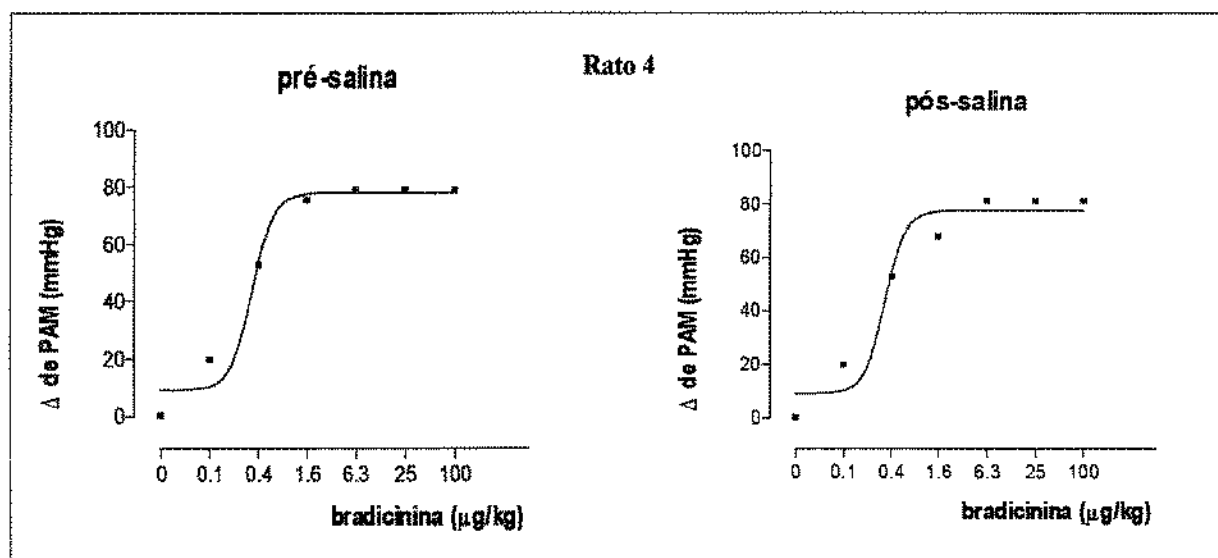
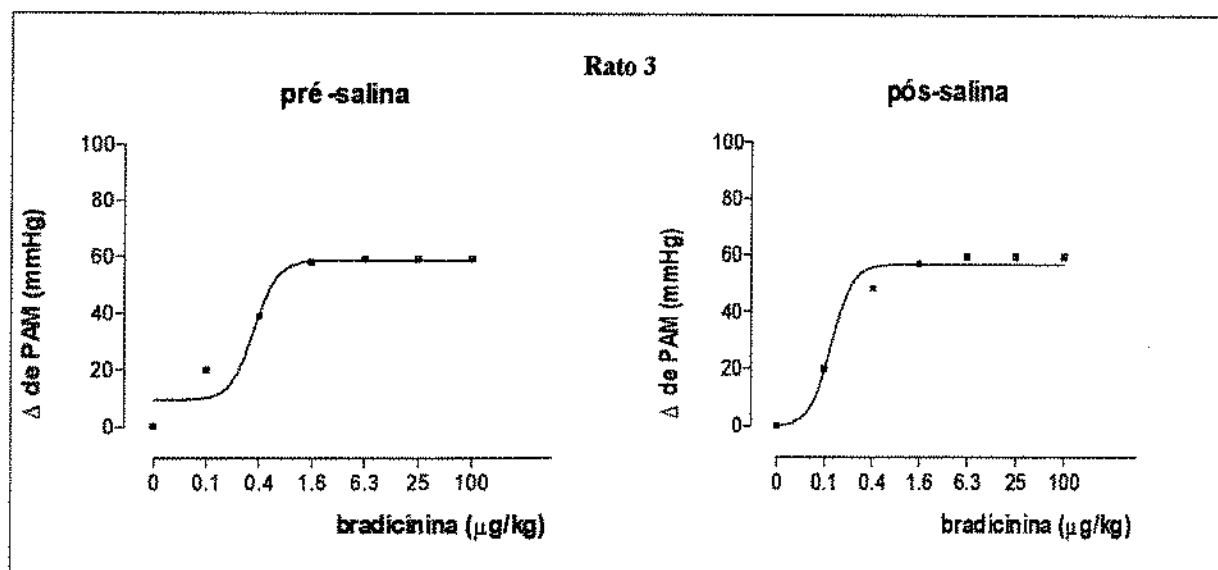
UNICAMP
INSTITUTO DE FARMACOLOGIA
SALA DE ANÁLISES

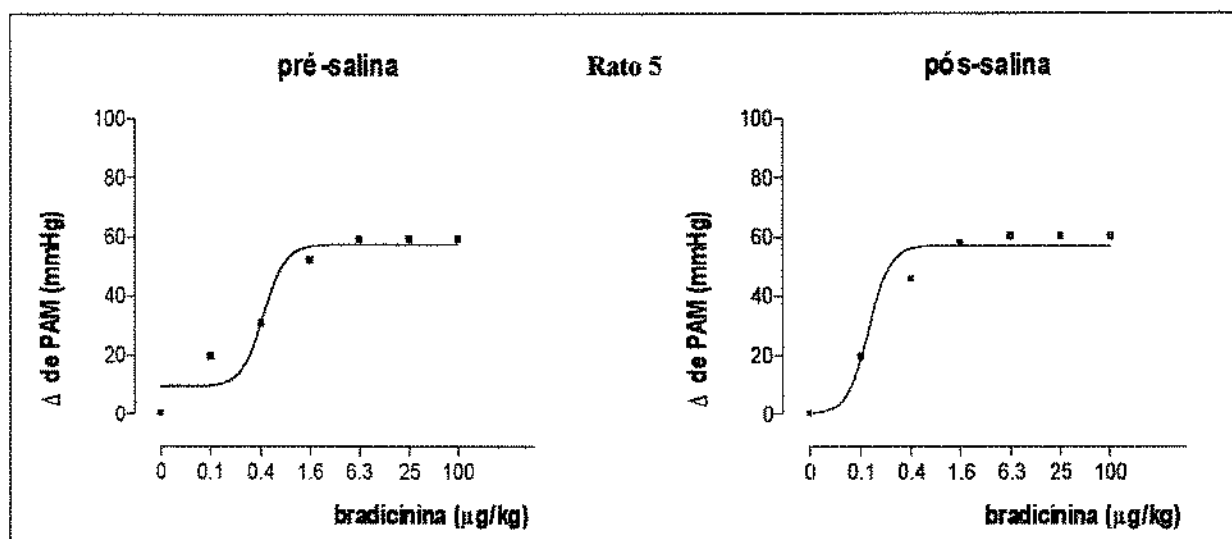


UNICAMP
 BIBLIOTECA CENTRAL
 SEÇÃO CIRCULANTE

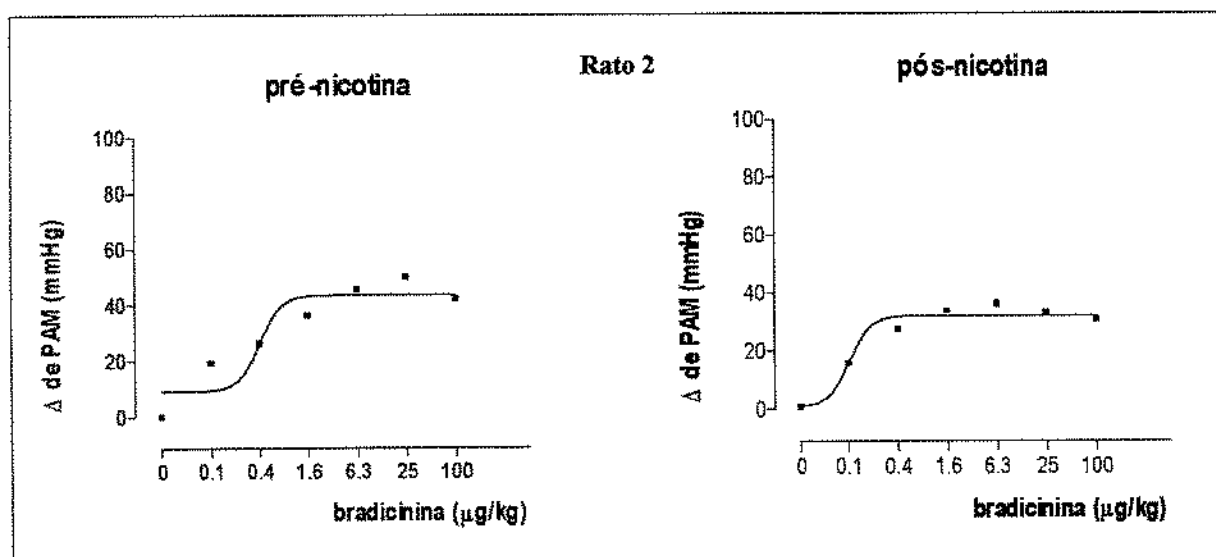
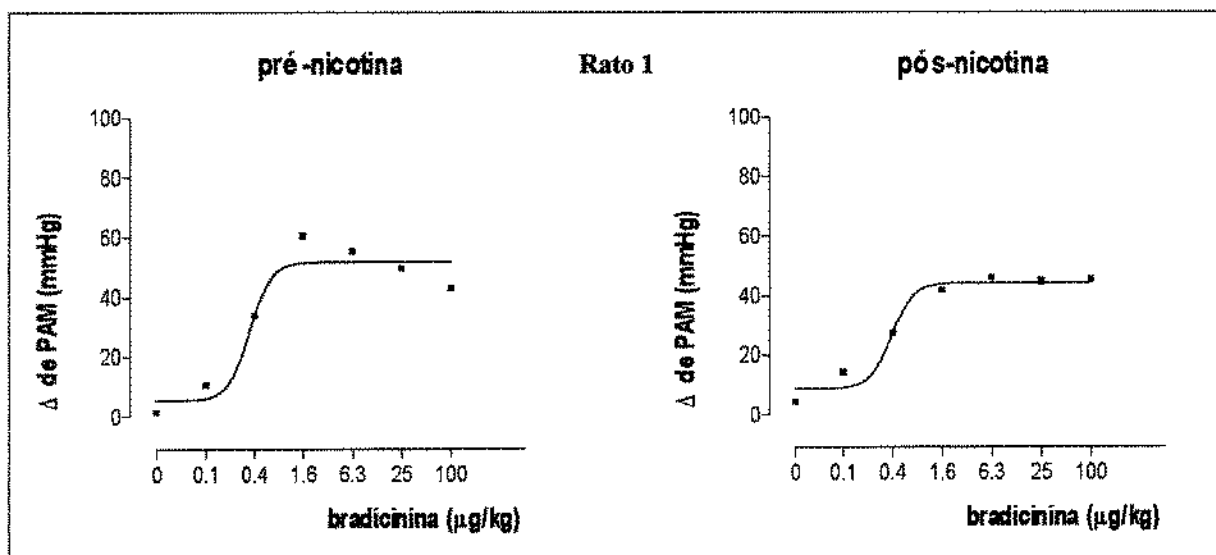
Anexo 26. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de salina, do grupo ENALAPRIL.

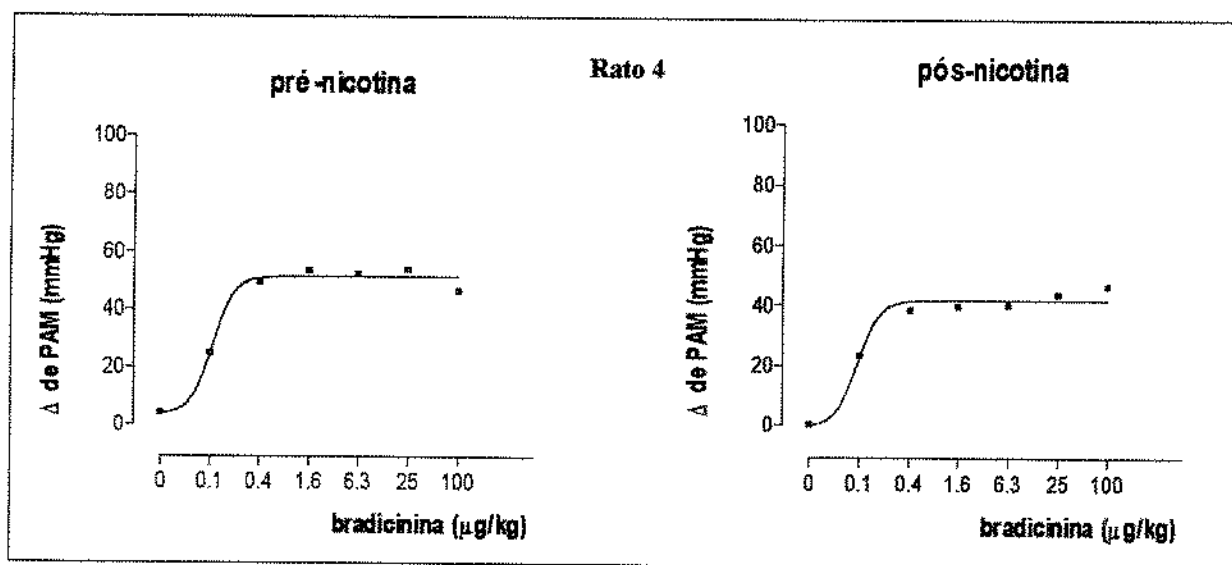
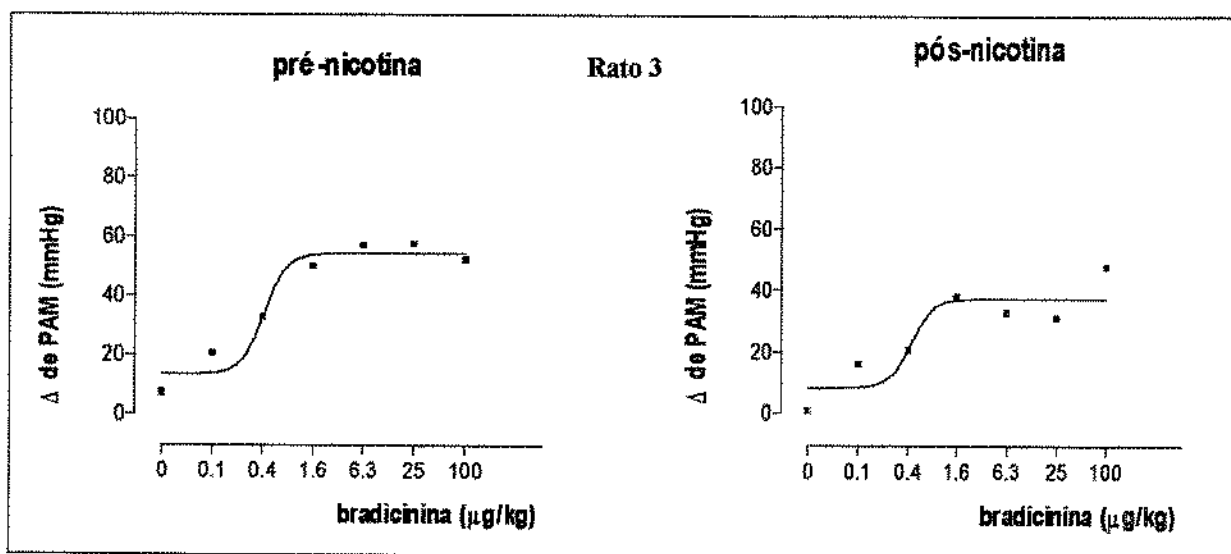


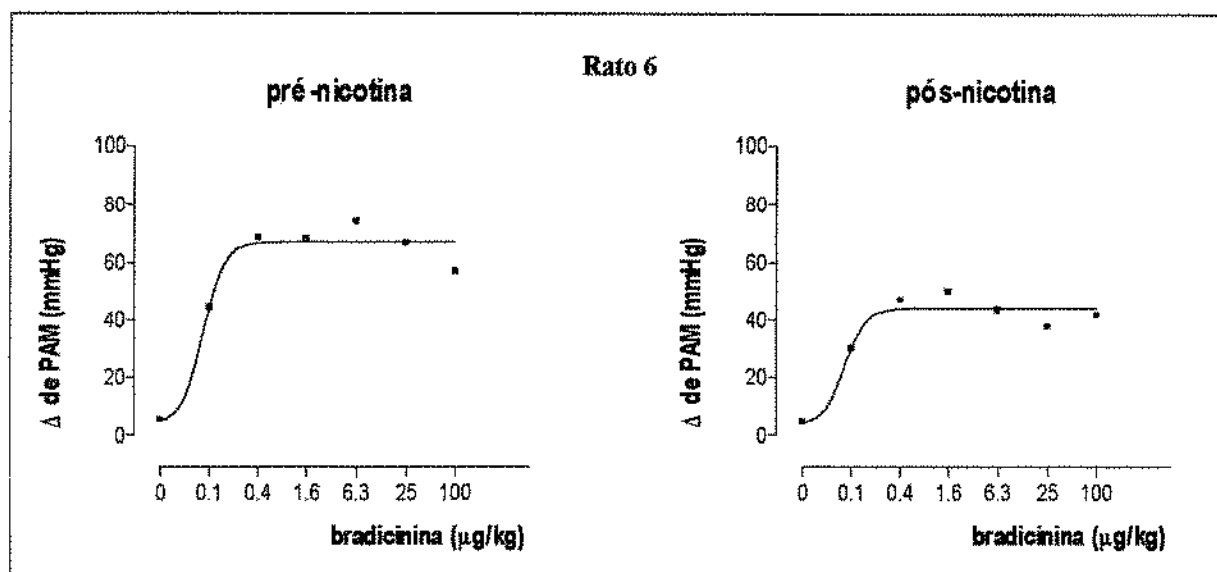
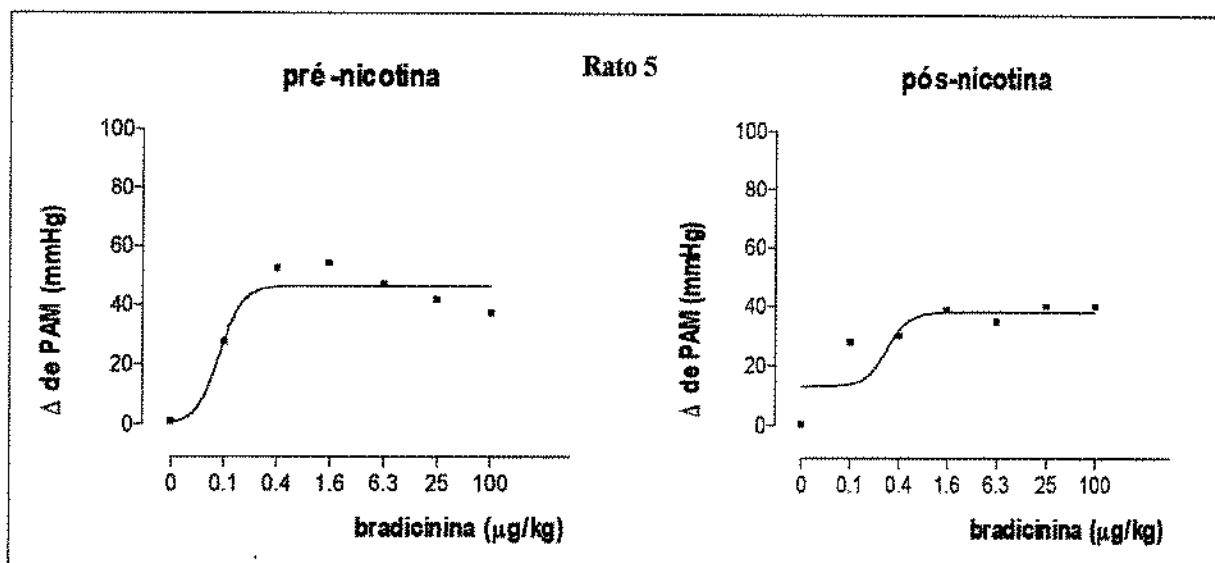


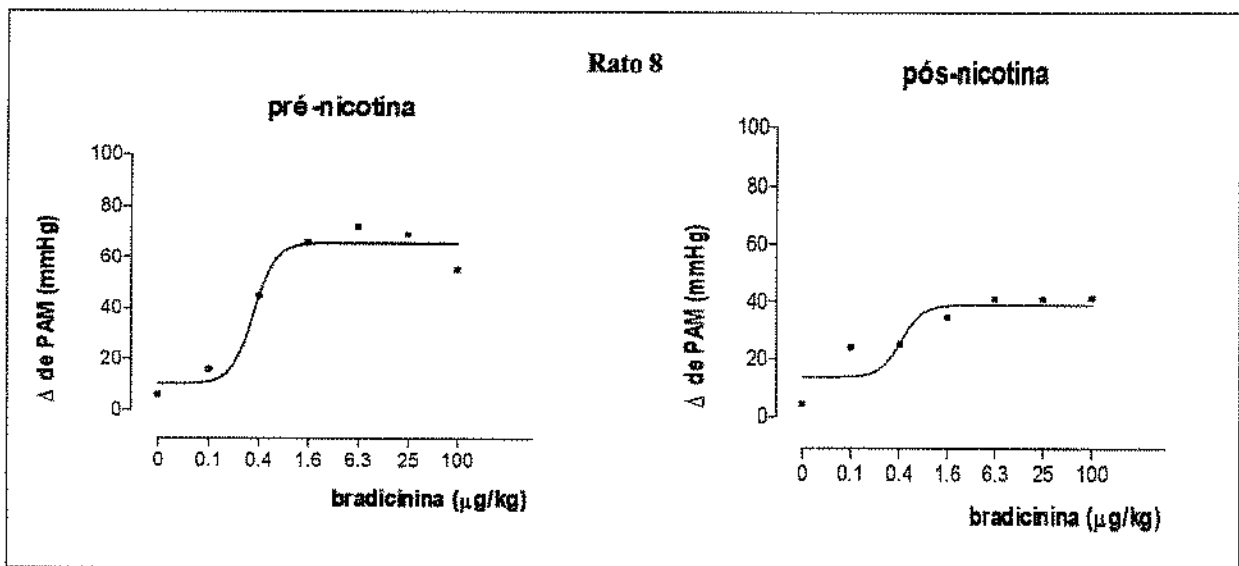
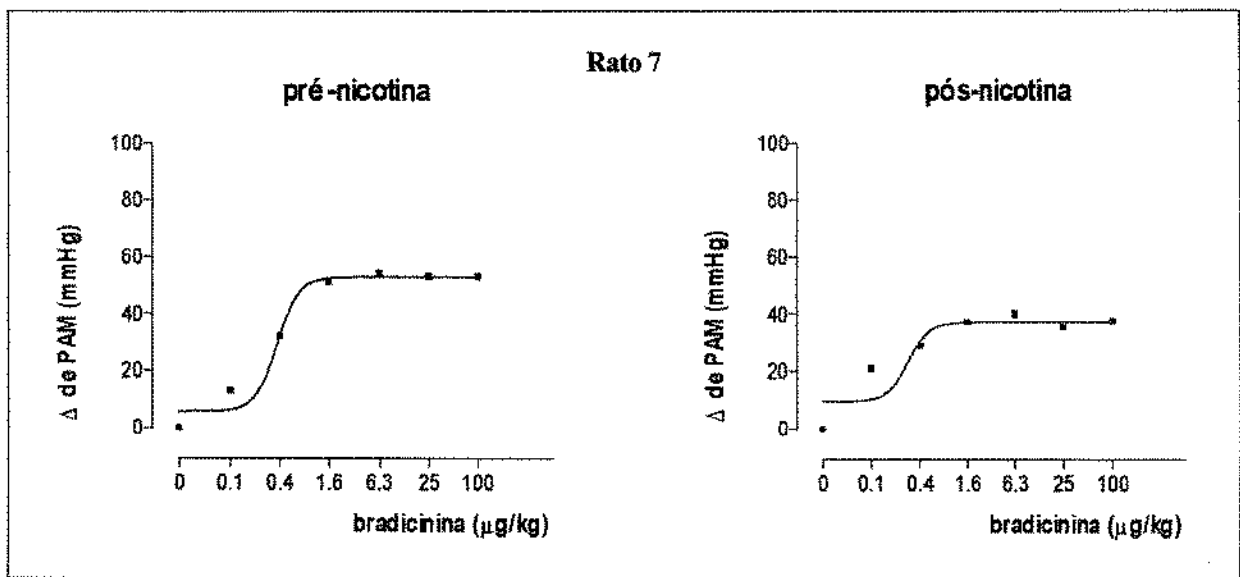


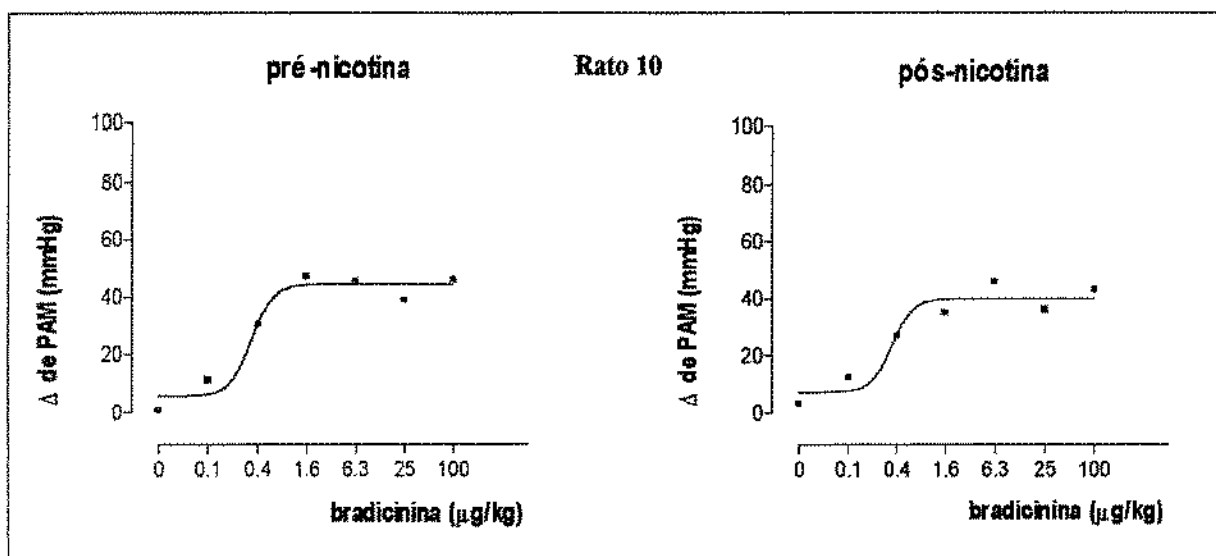
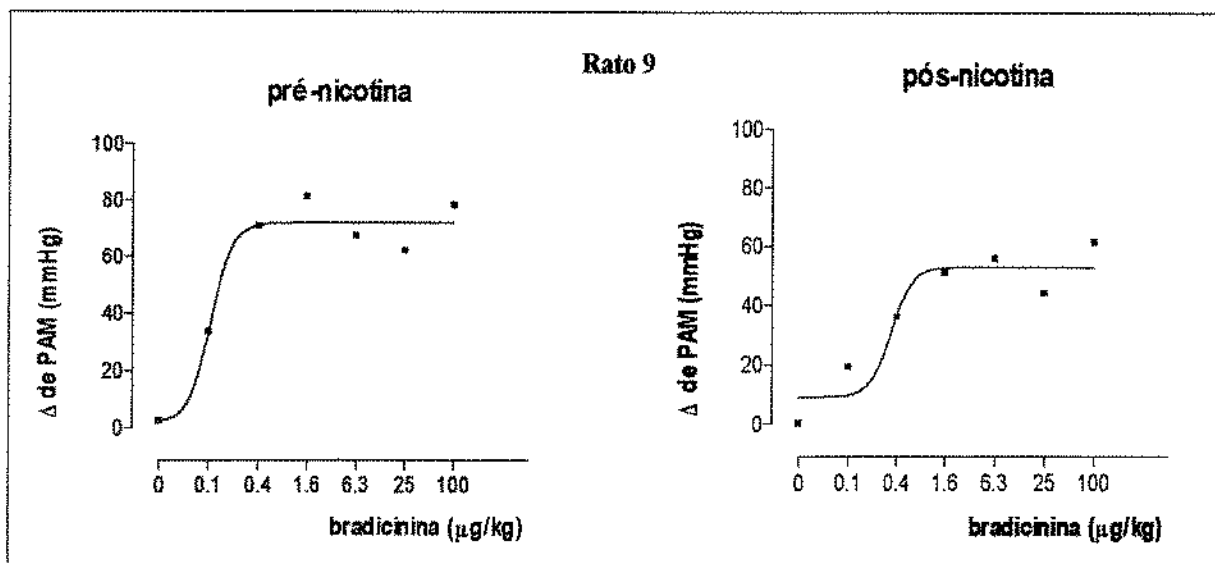
Anexo 27. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de nicotina, do grupo ENALAPRIL

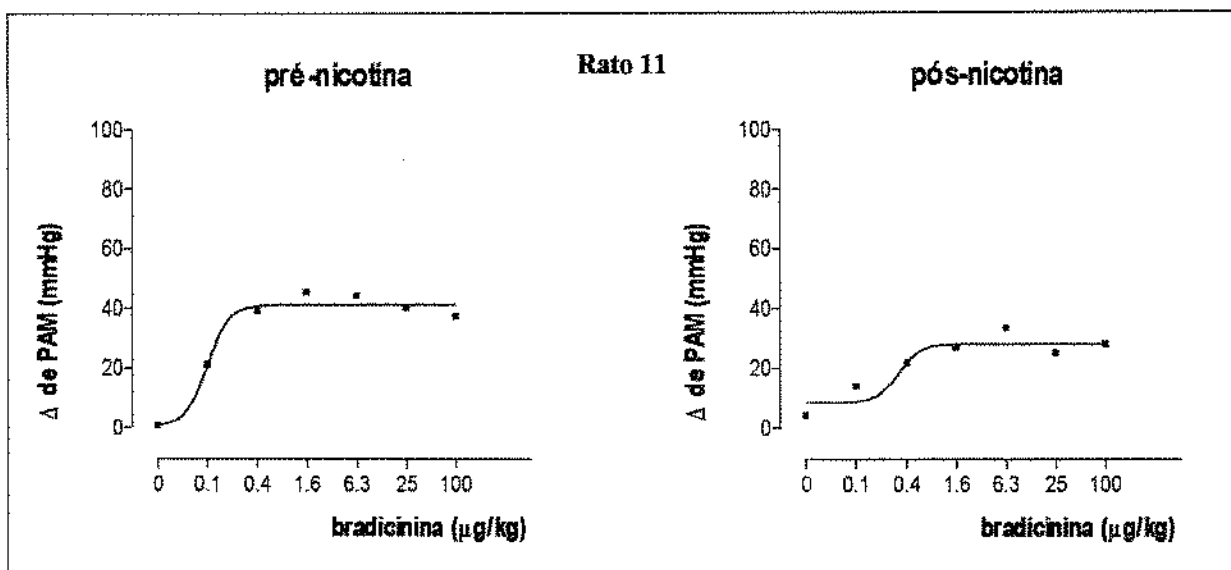






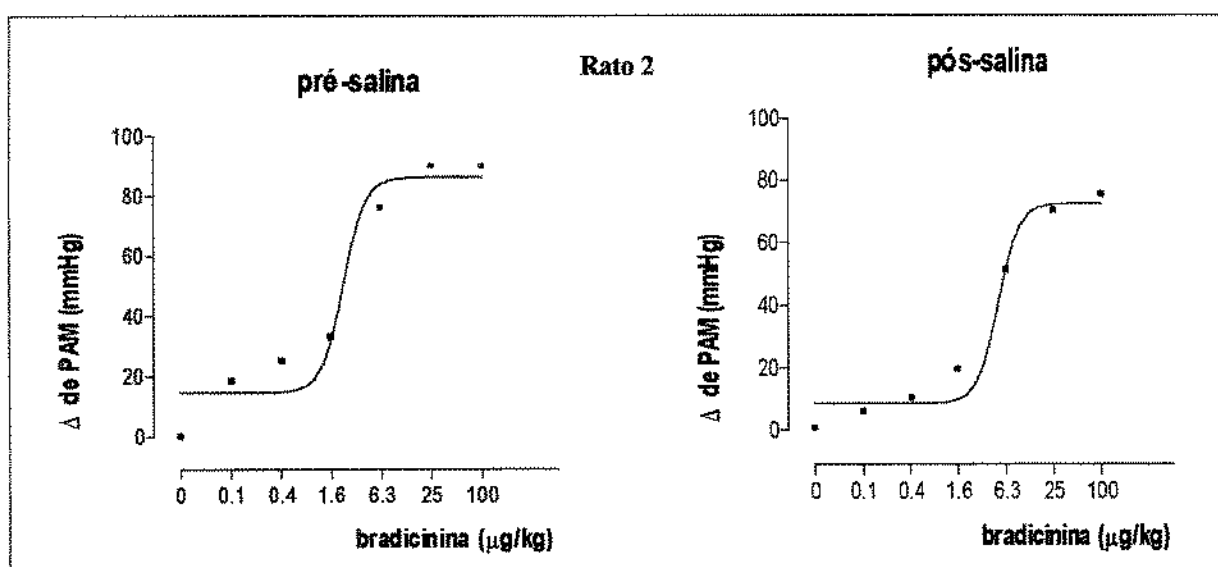
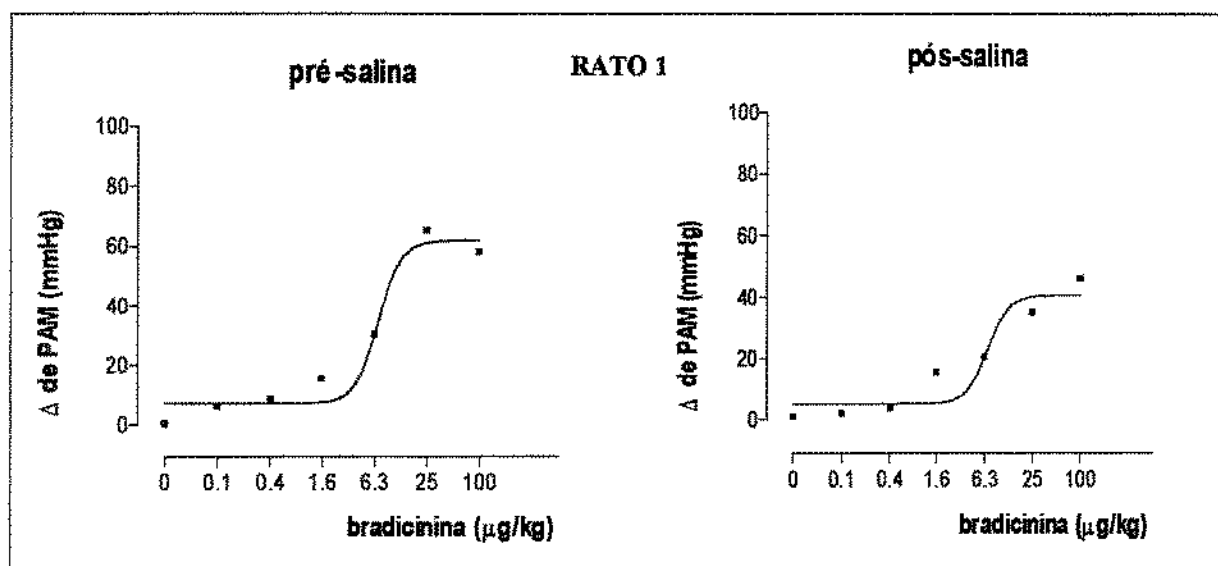




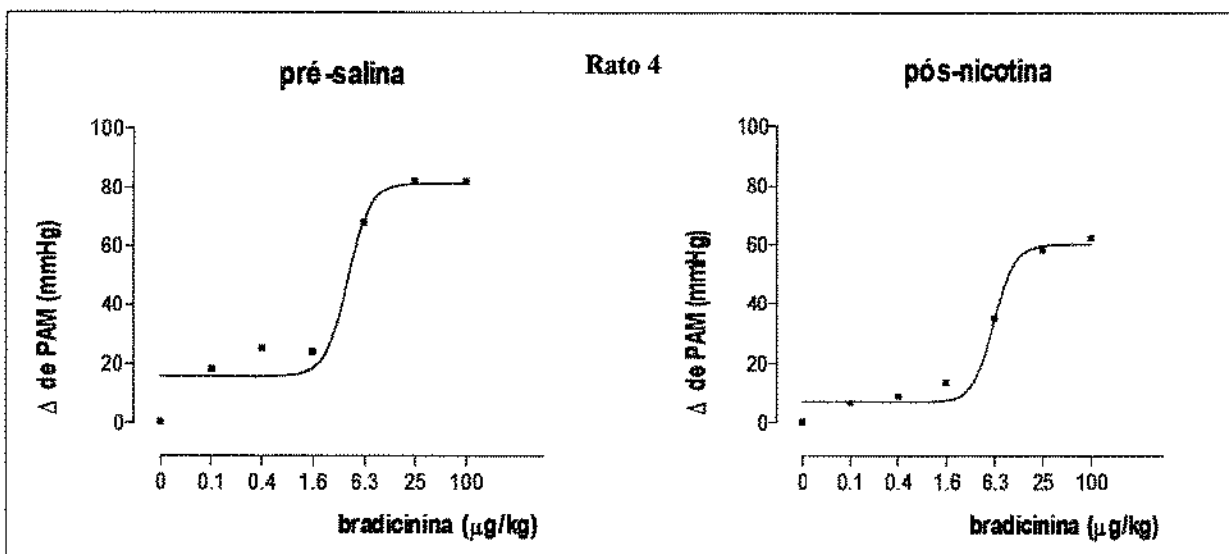
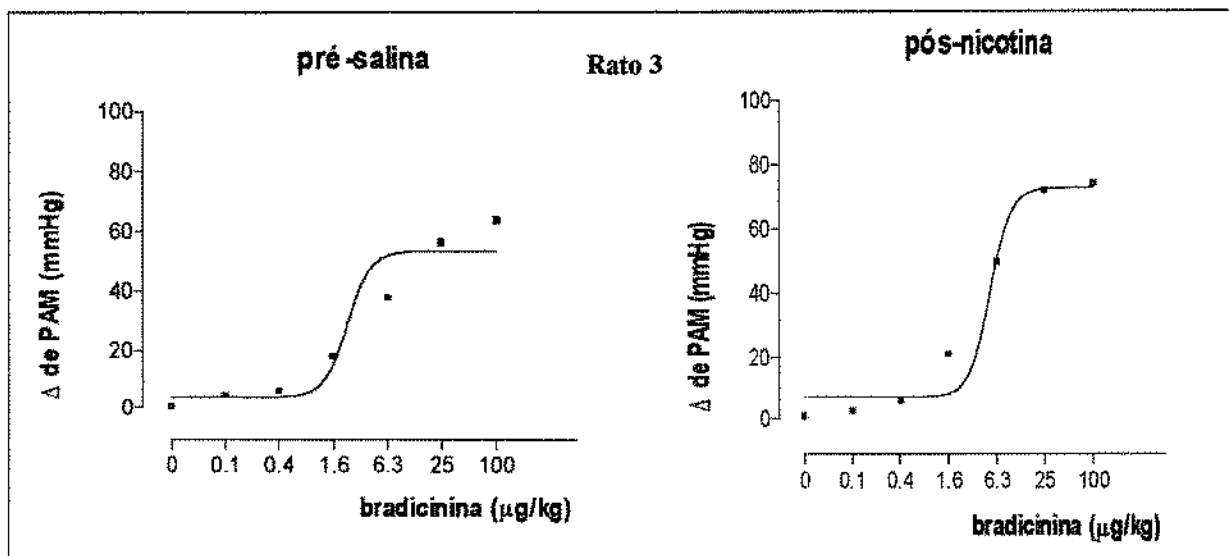


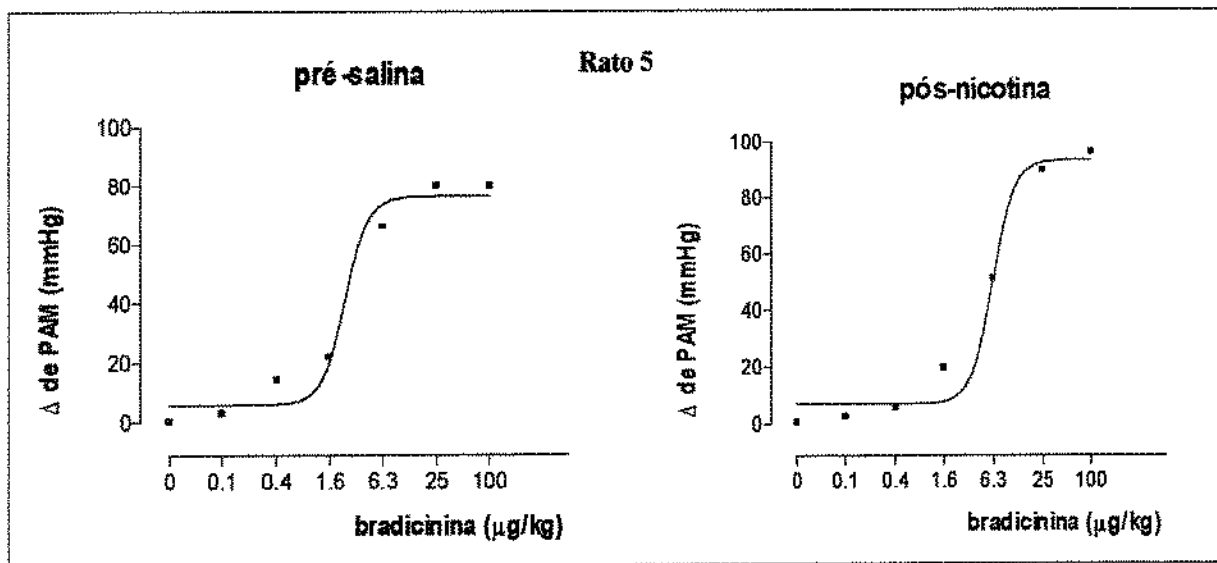
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Anexo 28. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de salina, do grupo LOSARTAN.

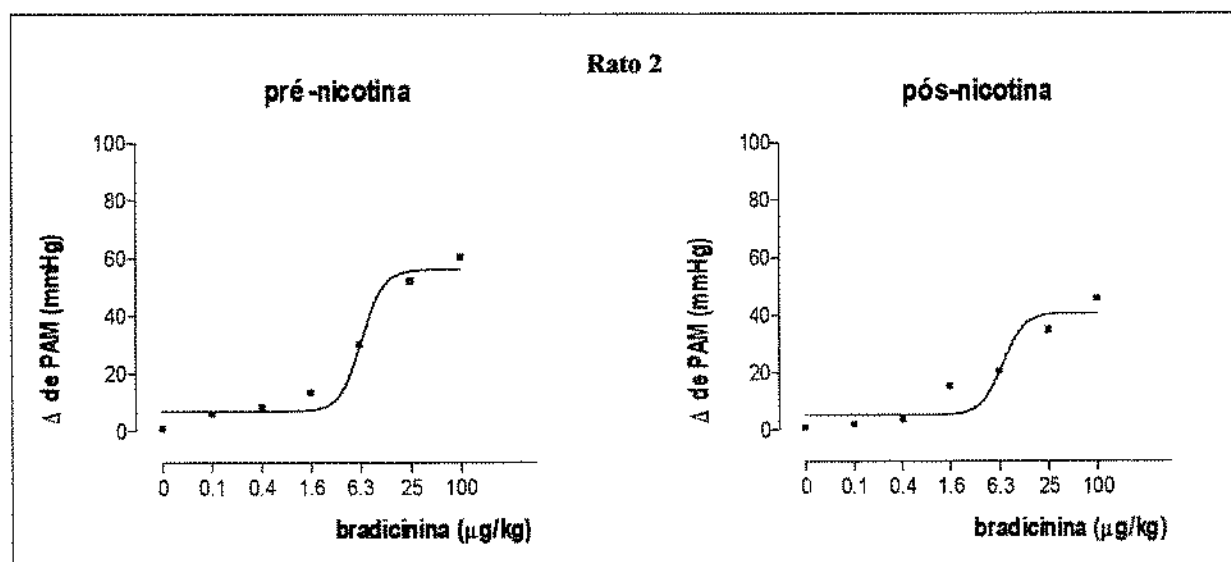
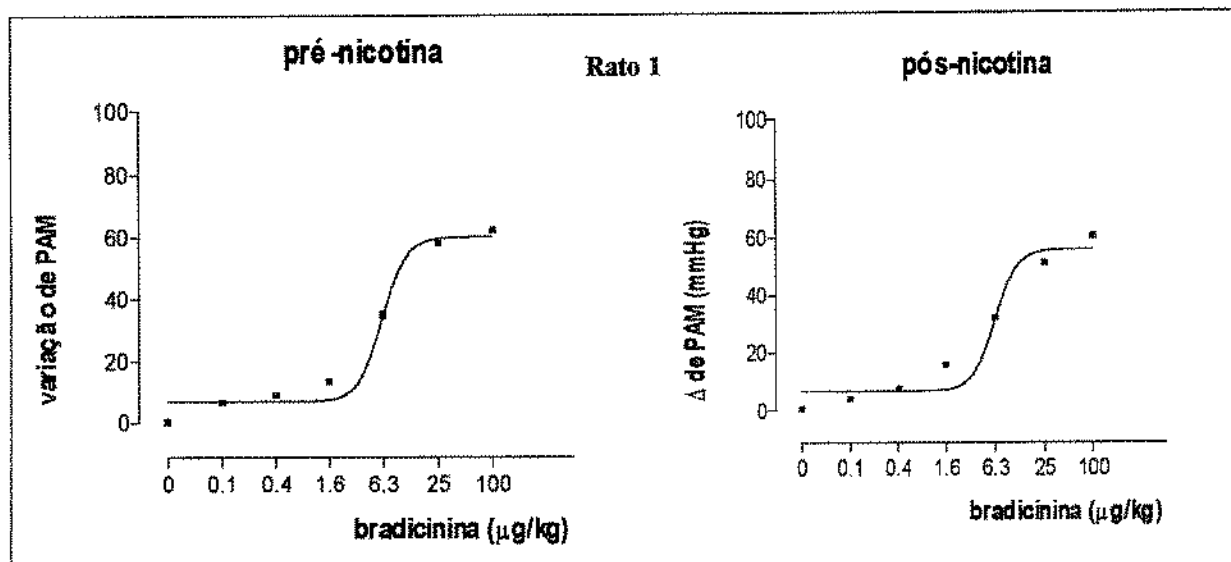


UNICAMP
 BIBLIOTECA CENTRAL
 SEÇÃO CIRCULANTE

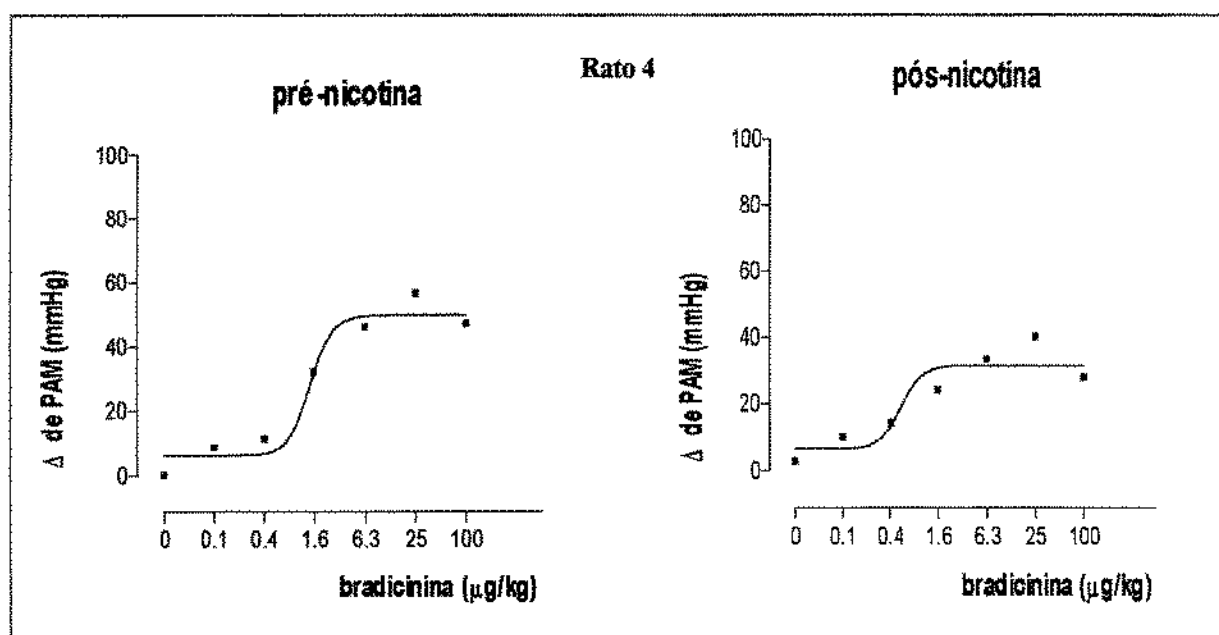
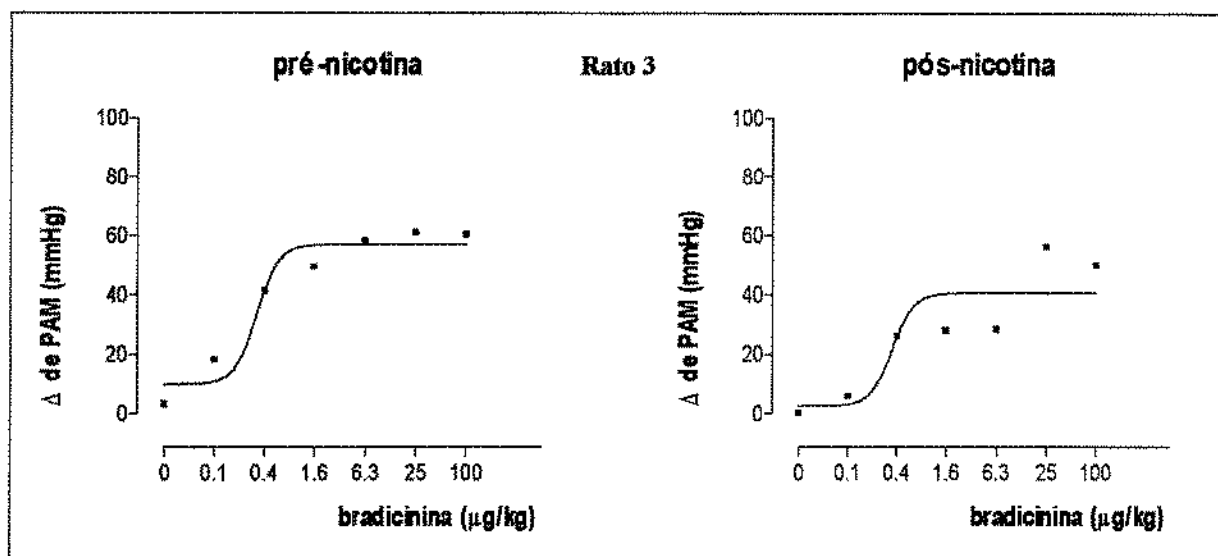




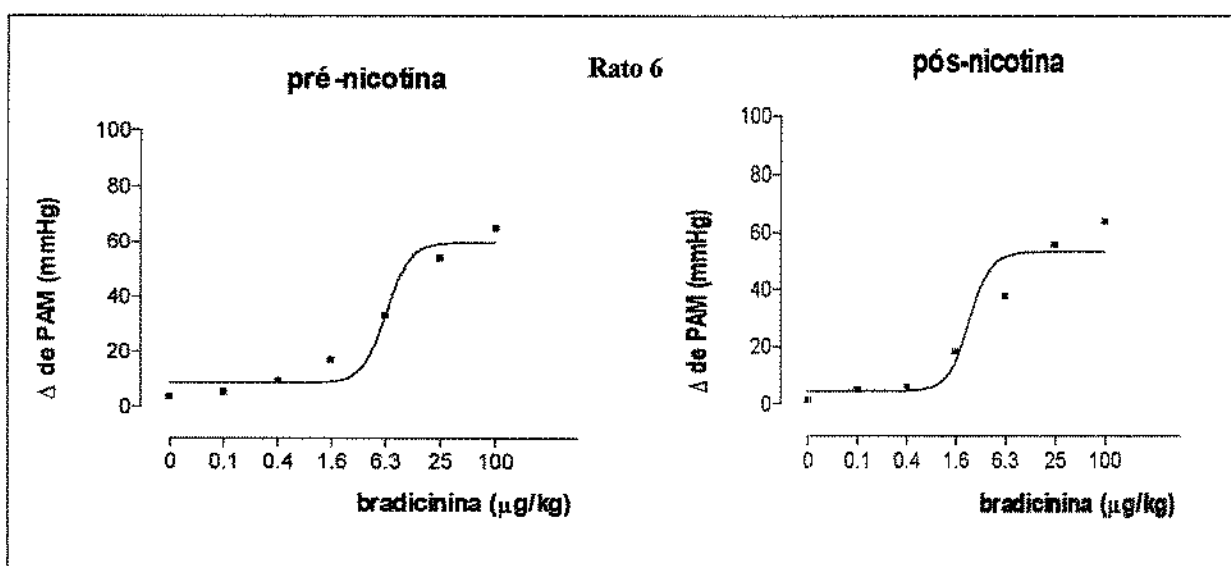
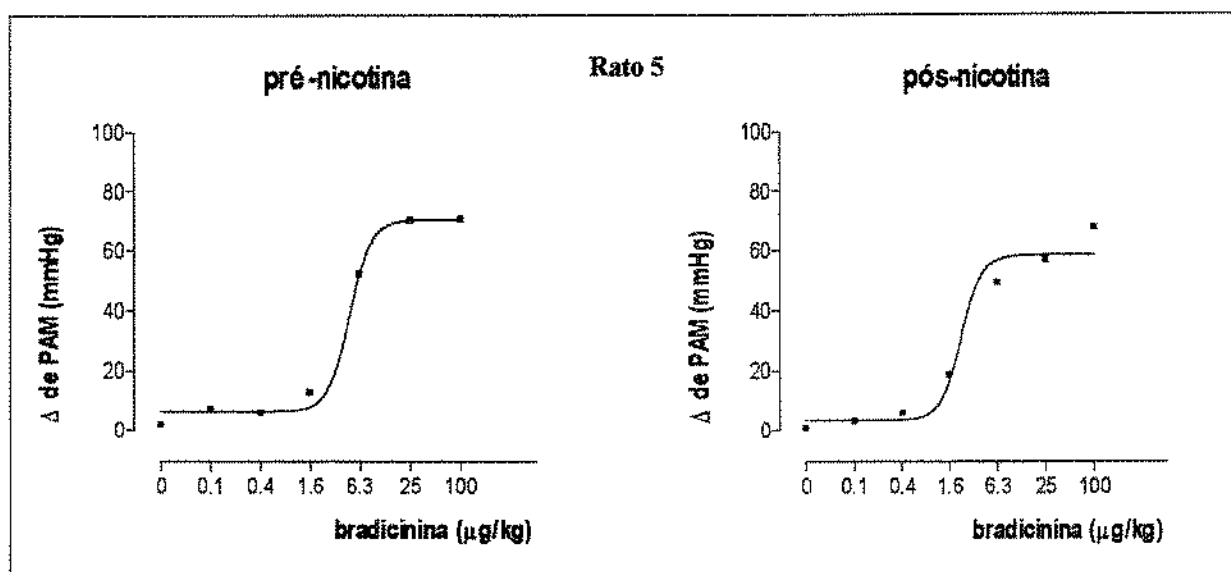
Anexo 29. Curva dose-resposta à bradicinina dos valores individuais da variação da PAM, expresso em milímetros de mmHg, antes e após a administração de nicotina, do grupo LOSARTAN

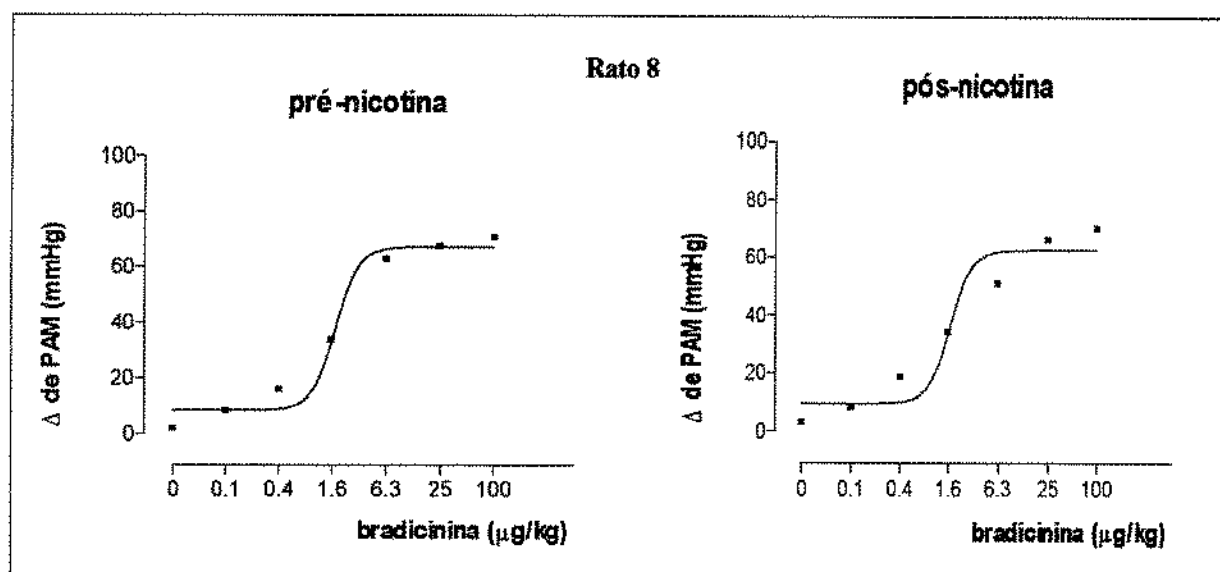
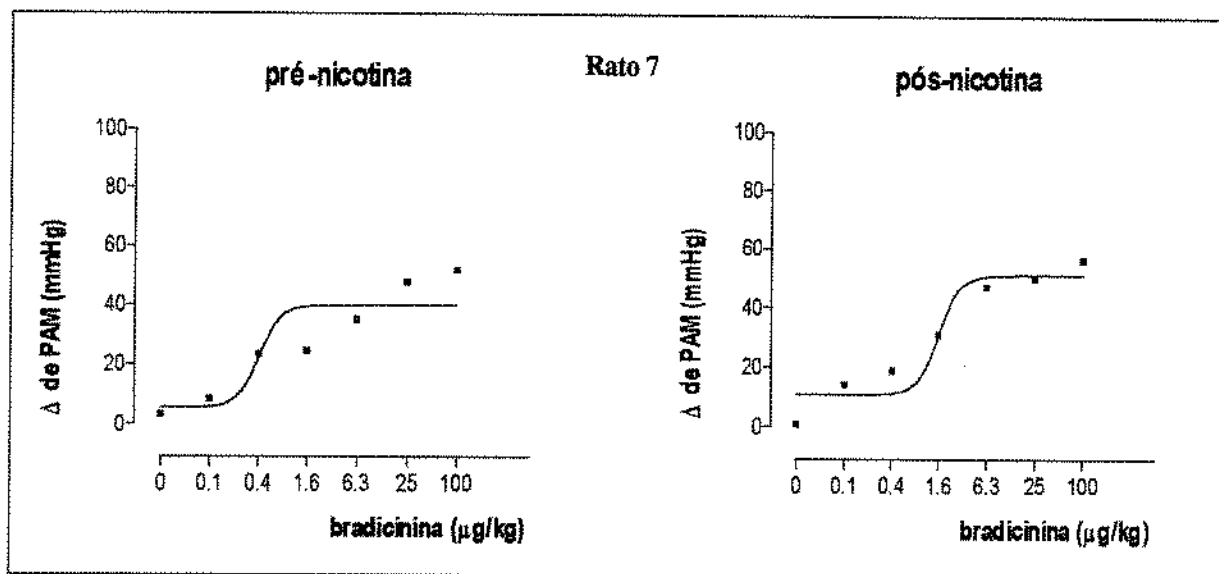


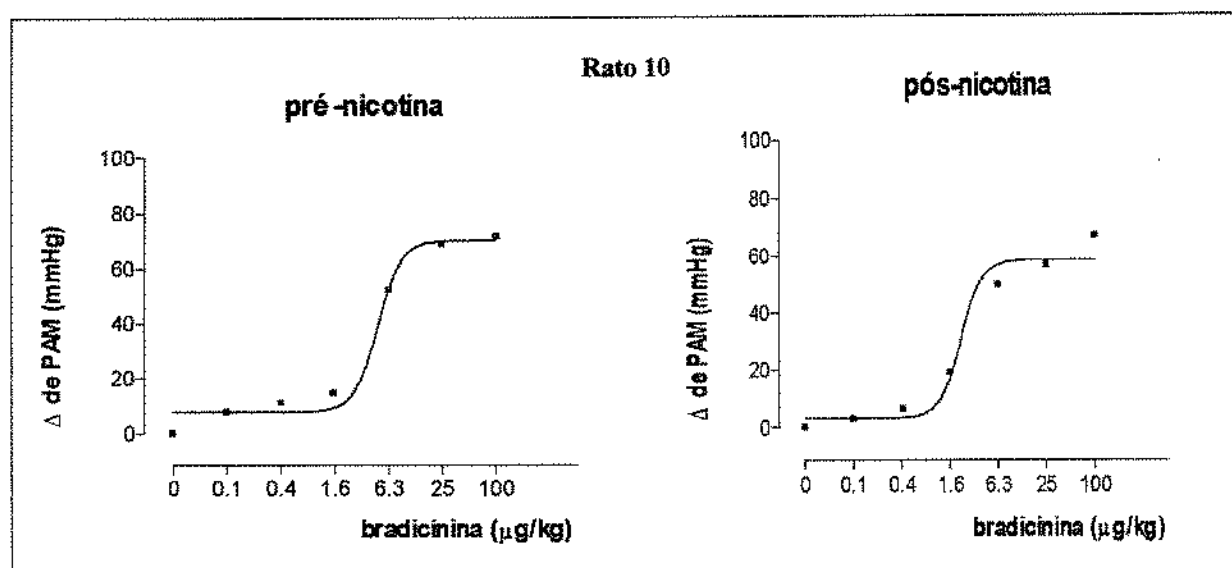
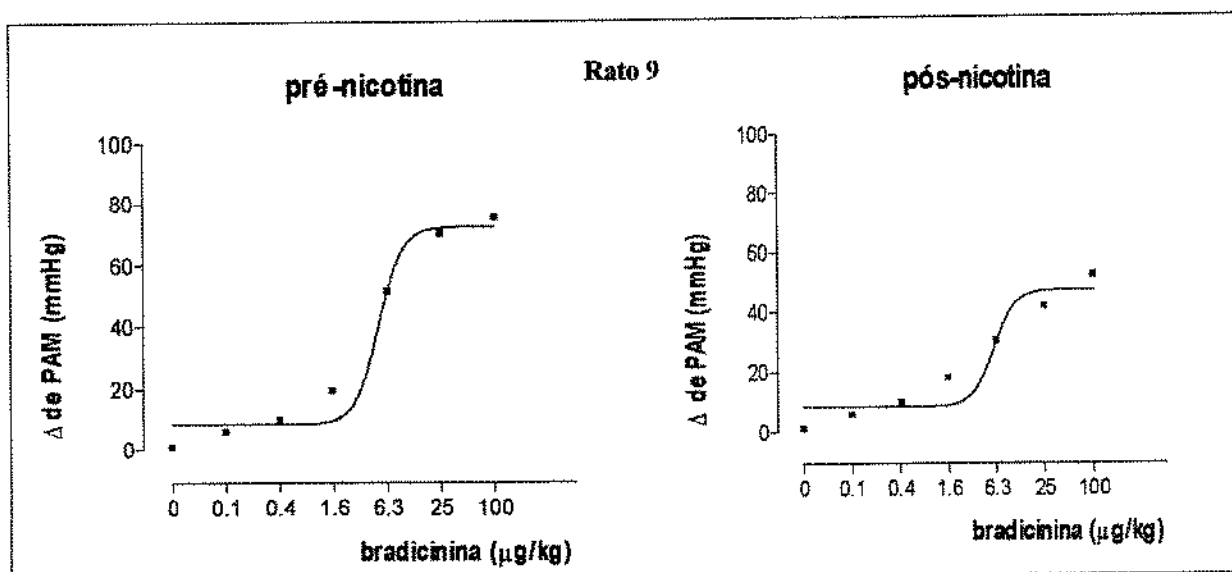
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE







UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE