



Efeito da administração oral de arginina sobre a pressão arterial e parâmetros cardíacos em ratos submetidos ao bloqueio crônico da síntese de óxido nítrico

Luciano Ramos¹, Rodrigo Labat², Flávio Aimbire S. Carvalho³, Airton Brandão Martin⁴ e Rodrigo Álvaro B. Lopes-Martins²

RESUMO

Já está claramente estabelecido, que a inibição crônica da síntese de óxido nítrico resulta em hipertensão sustentada, remodelamento cardíaco e fibrose. Além disso, resultados de nosso grupo demonstraram que a suplementação oral com L-arginina foi capaz de aumentar a resistência da musculatura esquelética a fadiga muscular localizada em humanos. O tratamento experimental de ratos com L-NAME é um dos modelos mais comumente utilizados para se induzir hipertensão. A resposta compensatória esperada contra o aumento da resistência vascular sistêmica seria a hipertrofia ventricular esquerda; entretanto, isso tem sido um ponto bastante controverso na literatura. O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos da inibição do óxido nítrico pela administração oral de L-NAME sobre o tecido cardíaco de ratos e a possível reversão pela L-arginina. Foram utilizados 30 ratos Wistar machos (250-350g), mantidos em condições de temperatura, luz e umidade controlada, e com água e comida *ad libitum*. Ao final de quatro semanas, os animais foram sacrificados por inalação de CO₂ e os corações foram removidos e imediatamente dissecados, sendo separados átrios e ventrículos, obtendo-se os pesos total e parcial. Os valores foram corrigidos em função do peso corporal obtido na última semana de tratamento e expressos como índice cardíaco. O L-NAME foi capaz de induzir hipertensão e aumento significativo do duplo produto, porém sem resultados significativos sobre os pesos cardíacos, não sendo observada hipertrofia do órgão. Os aumentos de pressão arterial e duplo produto foram revertidos pela administração concomitante de arginina, de maneira dependente da dose. Dados preliminares não publicados demonstraram a reversão da fibrose cardíaca induzida pelo L-NAME, nos animais que receberam tratamento com arginina. Podemos concluir que a arginina pode vir a ser uma ferramenta valiosa na prevenção da hipertensão e do remodelamento cardíaco, principalmente nos casos relacionados a disfunções vasculares e, ainda, produzindo efeitos adicionais em atividades atléticas.

Palavras-chave: L-NAME. Arginina. Hipertensão. Ratos.

Keywords: L-NAME. Arginine. Hypertension. Rats.

Palabras-clave: L-NAME. Arginina. Hipertensión. Ratones.

ABSTRACT

Effect of oral arginine administration over blood pressure and cardiac parameters in rats submitted to chronic inhibition of nitric oxide synthesis

It has been clearly established that chronic inhibition of nitric oxide synthesis results in a sustained increase in blood pressure, cardiac remodeling and fibrosis. It was also demonstrated by our group that arginine supplementation was able to increase the skeletal muscle resistance to fatigue, but its mechanism remains uncertain. The experimental treatment of rats with L-NAME is one of the most common models employed to induce hypertension. The expected compensatory response against increases in systemic vascular resistance would be ventricular hypertrophy. However, the presence of cardiac hypertrophy still controversial. The aim of the present study was to verify the effects of nitric oxide inhibition through oral L-NAME administration on the cardiac tissue of rats, and the possible reversion by L-arginine. Thirty male Wistar rats (250-350 g) were kept in controlled conditions of temperature, light, humidity, with water and food "ad libitum". At the end of 4 weeks or treatments the animals were sacrificed by CO₂ inhalation and the hearts were removed. Soon after, the hearts were dissected, to separate atria and ventricles, obtaining the total heart weight. After the retreat of the right ventricle, the remaining part was weighed, to obtain the left ventricular weight (LVW, mg); the difference between the total heart weight and the LVW was considered the right ventricular weight (RVW, mg). These values were corrected in function of the corporal weight obtained in the last week of treatment. L-NAME was able to induced hypertension and increases in double product but without any heart hypertrophy. The increase arterial pressure and double product were reversed by L-arginine administration in a dose-dependent way. Preliminary findings demonstrated a reversion of heart fibroses induced by L-NAME, after arginine treatment. We concluded that arginine may constitute a valuable tool in preventing hypertension and cardiac remodeling mainly related to vascular dysfunctions and maybe also in athletic activities.

RESUMEN

Efecto de la administración oral de arginina sobre la presión arterial y los parámetros cardíacos en ratones sometidos al bloqueio crónico de síntesis de óxido nítrico

Está claramente establecido que la inhibición crónica de la síntesis de óxido nítrico resulta en hipertensión sustentada, remodelación cardíaca y fibrosis. Además de esto, los resultados de nuestro grupo demostraron que el suplemento oral con L-arginina fue capaz de aumentar la resistencia de la musculatura esquelética a la fadiga muscular localizada en humanos. El tratamiento experimental de ratones

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP – São José dos Campos (SP) – Brasil.
2. Laboratório de Farmacologia e Fototerapia da Inflamação, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo – São Paulo (SP) – Brasil.
3. Laboratório de Experimentação Animal – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP – São José dos Campos (SP) – Brasil.
4. Laboratório de Espectroscopia Vibracional – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP – São José dos Campos (SP) – Brasil.

Recebido em 30/9/05. Segunda versão recebida em 5/12/05. Aceito em 24/4/06.

Endereço para correspondência: Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins, Ph.D. Laboratório de Farmacologia e Fototerapia da Inflamação, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, Av. Lineu Prestes, 1.524, Cidade Universitária – 05508-900 – São Paulo, SP. E-mail: rmartins@icb.usp.br

con L-NAME, es uno de los modelos más utilizado para inducir hipertensión. La respuesta compensatoria esperada contra el aumento de la resistencia vascular sistémica sería la hipertrofia ventricular izquierda, sin embargo, esto ha sido un punto bastante controversial en la literatura. El objetivo del presente estudio ha sido el de verificar los efectos de la inhibición del óxido nítrico por la administración oral de L-NAME sobre el tejido cardíaco de ratones, y la posible reversión por la L-arginina. Fueron utilizados 30 ratones Wistar machos (250-350g), mantenidos en condiciones de temperatura, luz y humedad controlada, y con agua y comida "ad libitum". Al final de 4 semanas, los animales fueron sacrificados por inhalación de CO₂ y los corazones fueron removidos e inmediatamente disecados, siendo separados atrios y ventrículos, obteniéndose los pesos total y parcial. Los valores fueron corregidos en función del peso corporal obtenido en la última semana de tratamiento y expresados como índice cardíaco. El L-NAME fue capaz de inducir hipertensión y aumento significativo del doble producto, pero sin resultados significativos sobre los pesos cardíacos, no siendo observada hipertrofia del órgano. Los aumentos de presión arterial y el doble producto fueron revertidos por la administración concomitante de arginina, de manera dependiente de la dosis. Datos preliminares no publicados demostraron la reversión de fibrosis cardíaca inducida por L-NAME, en los animales que recibieron tratamiento con arginina. Podemos entonces concluir que la arginina puede venir a ser una herramienta valiosa en la prevención de la hipertensión y de la remodelación cardíaca, principalmente en los casos relacionados a las disfunciones vasculares, y más aún, produciendo efectos adicionales en actividades atléticas.

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial (HA) é considerada como um fator de risco primário para doenças cardíacas e cerebrovasculares, podendo ocorrer em todas as idades e em ambos os sexos^(1,2), sendo também conhecida como mal silencioso devido à ausência de sinais precoces. Diversos eventos cardíacos e cerebrovasculares possuem relação direta com os níveis pressóricos alterados. O modelo Framingham usado para previsão do risco da HA prediz a PAS com um importante fator de risco relacionado na ocorrência de doenças coronarianas significativas⁽³⁾. A elevação da pressão arterial (PA) pode causar, entre outras coisas, disfunções e lesões do endotélio vascular com migração de elementos aterogênicos, incluindo LDL, monócitos e macrófagos^(4,5).

O endotélio vascular, monocamada de células que reveste os vasos sanguíneos e que separa a corrente circulatória do músculo liso vascular, não constitui simplesmente uma membrana de diálise, mas possui intensa atividade metabólica. Ele está envolvido na síntese e/ou no metabolismo de diversos mediadores endógenos tais como o óxido nítrico, as prostaglandinas e as endotelinas. Diversas substâncias derivadas do endotélio parecem estar envolvidas na modulação fisiológica do controle local do tônus e do fluxo vascular: a) substâncias vasodilatadoras – o óxido nítrico (NO) e a prostaciclina (PGI₂); b) substâncias vasoconstritoras – endotelina e tromboxano A₂, por exemplo. Estas substâncias, que são, em alguns casos, produzidas continuamente pelas células endoteliais em pequenas quantidades, podem ser liberadas em quantidades bem maiores por estímulos mecânicos e humorais⁽⁶⁾.

Devido ao aumento do interesse em relação às funções biológicas do NO, centenas de pesquisadores em todo mundo vêm estudando o papel do endotélio vascular no processo de relaxamento do vaso sanguíneo^(7,8). O interesse por esta questão originou-se em uma pesquisa realizada por Furchgott e Zawadzki⁽⁸⁾, que demonstraram que o relaxamento vascular induzido por acetilcolina foi dependente do endotélio e evidenciando que o efeito demonstrado era mediado por um fator humoral lábil, mais tarde conhecido como fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF). Rapoport e Murad⁽⁹⁾ sugeriram que o mecanismo EDRF, que causava relaxamento vascular, era mediado pela guanosina monofosfato

cíclica (GMP_c). Sete anos após a descoberta do EDRF, Palmer⁽¹⁰⁾ e Ignarro⁽¹¹⁾, quase simultaneamente, demonstraram que esse fator de relaxamento derivado do endotélio era um radical livre, o NO. Foi sugerido que o EDRF e o NO eram indistinguíveis na atividade biológica, estabilidade química e suscetibilidade a inibidores ou potencializadores e que ambos tinham sua ação inibida pela hemoglobina e potencializada pela superóxido-dismutase.

Ratos tratados com N-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME), um potente inibidor da síntese de óxido nítrico (NO), constituem um modelo amplamente utilizado de hipertensão arterial sistêmica⁽¹²⁾. A resposta compensatória ao aumento de pós-carga é a hipertrofia ventricular esquerda. Entretanto, a hipertrofia ventricular esquerda no modelo de L-NAME é controverso. Estudos prévios relataram todo o tipo de resposta cardíaca em animais tratados com L-NAME, desde nenhuma hipertrofia, passando por hipertrofia leve até moderada⁽¹³⁻¹⁷⁾.

Por outro lado, também tem sido relatado, tanto em animais quanto em humanos, que a infusão de L-arginina (aminoácido que atua como substrato para a síntese do óxido nítrico) induz melhora significativa na vasodilatação dependente de endotélio, em condições de hipercolesterolemia, sugerindo que a diminuição da disponibilidade do substrato pode ser responsável pela responsividade vascular diminuída, que é observada nestas condições⁽¹⁸⁻¹⁹⁾. Testes recentes verificaram a possibilidade da suplementação oral de L-arginina, através da dieta, restabelecer, ao menos em parte, a função endotelial. Além disso, a administração oral de L-arginina é capaz de melhorar fatores hemodinâmicos e a capacidade de realizar atividades físicas⁽²⁰⁻²¹⁾.

Dados da literatura indicam que a inibição ou a produção deficiente de óxido nítrico no organismo pode ser responsável por uma série de transformações que atuam em sinergia com outros fatores de risco cardiovasculares para a incidência de eventos como AVEs, infartos e vasoespasmos. Por outro lado, a administração oral do aminoácido L-arginina pode constituir uma ferramenta simples e segura para a reversão dos efeitos deletérios da disfunção na produção do óxido nítrico endógeno.

MÉTODOS

Foram utilizados 30 ratos machos da linhagem Wistar, adultos jovens, pesando entre 250 e 300g. Os animais foram obtidos do biotério do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) e mantidos em condições controladas de temperatura, luminosidade e umidade. A alimentação constou de água e ração (Purina/Brasil) *ad libitum*.

Grupos experimentais

Trinta animais foram aleatoriamente divididos em cinco grupos com seis indivíduos cada, conforme descrito nos protocolos abaixo:

Protocolo nº 1: Grupo controle recebeu ração padrão e água fresca.

Protocolo nº 2: Grupo tratado com 60mg/kg diárias de L-NAME em um volume de 0,5ml durante 28 dias.

Protocolo nº 3: Grupo tratado com 60mg/kg diárias de L-NAME e 10mg/kg diárias de L-arginina durante 28 dias.

Protocolo nº 4: Grupo tratado com 60mg/kg diárias de L-NAME e 30mg/kg diárias de L-arginina durante 28 dias.

Protocolo nº 5: Grupo tratado com 60mg/kg diárias de L-NAME e 100mg/kg diárias de L-arginina durante 28 dias.

Procedimento cirúrgico e parâmetros hemodinâmicos

Para a realização da verificação dos valores pressóricos e frequência cardíaca, os ratos foram anestesiados com tiletamina + zolazepam (40mg/kg¹), administrados intraperitonealmente (i.p); a anestesia foi complementada por uma outra injeção via intraperitoneal de 15mg/kg de tiletamina + zolazepam antes do período controle, e quando necessário. Os ratos foram traqueostomiza-

dos, intubados com um tubo de polietileno e imobilizados com brometo de pancurônio (1mg/kg iv), com doses suplementares de 1mg/kg quando necessário. Os animais foram ventilados artificialmente por um respirador mecânico (*Ugo Basile* 7052, volume corrente de 2ml/kg, e frequência respiratória de 75 ciclos/min); a veia jugular direita foi cateterizada para permitir as injeções intravenosas de brometo de pancurônio. A pressão arterial foi continuamente monitorada através de um cateter colocado na artéria carótida esquerda e conectado a um transdutor de pressão arterial (*Ugo Basile*), ligado a um fisiógrafo *Gemini 7070* (*Ugo Basile*). A pressão arterial pulsátil (sistólica e diastólica) foi obtida diretamente do registro pressórico e a pressão arterial média calculada pela fórmula $PAM = (pressão\ sistólica - pressão\ diastólica)/3 + pressão\ diastólica$; a frequência cardíaca foi avaliada a cada cinco minutos pela contagem dos batimentos cardíacos, diretamente do registro, aumentando-se a velocidade do registrador.

Duplo produto

O índice do duplo produto foi utilizado como indicador indireto do trabalho cardíaco, calculado pela fórmula: $DP = pressão\ sistólica \times frequência\ cardíaca$.

Protocolo de eutanásia

Após a verificação dos valores de pressão arterial e frequência cardíaca dos animais de todos os grupos, ao final de quatro semanas, os animais foram submetidos ao protocolo de eutanásia, que consiste em 0,1ml de cloridrato de xilazina + 0,1ml de cloridrato de ketamina injetados intraperitonealmente e, após o efeito anestésico, os animais foram colocados em uma câmara mortuária e sacrificados por inalação de CO_2 .

Avaliação dos pesos cardíacos

Após o sacrifício dos animais, os corações foram removidos para posterior análise. Estes foram lavados com solução salina (0,9%, p/v) para a remoção de coágulos. Em seguida, os corações foram dissecados, os átrios removidos e os ventrículos pesados, obtendo-se dessa forma o peso cardíaco total (PCT, mg). Após a retirada do ventrículo direito, o tecido remanescente foi pesado, obtendo-se assim o peso ventricular esquerdo (PVE, mg), e pela diferença entre o peso cardíaco total e o peso ventricular esquerdo se dá o peso ventricular direito (PVD, mg). Esses valores foram corrigidos em função do peso corpóreo obtido na última semana de tratamento, e dessa forma, foram finalmente expressos como peso cardíaco relativo ($PCR = PCT/peso\ corpóreo, mg/g$), índice do peso ventricular esquerdo ($IPVE = PVE/peso\ corpóreo, mg/g$) e o índice do peso ventricular direito ($IPVD = PVD/peso\ corpóreo, mg/g$).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. A análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas foi aplicada para avaliar diferenças no peso corporal e na pressão arterial e ANOVA de uma via será usada para comparar os pesos cardíacos.

RESULTADOS

Avaliação do efeito da L-arginina de forma preventiva na elevação dos níveis pressóricos induzida por L-NAME

O gráfico 1 representa os valores da pressão arterial sistólica em ratos nos diferentes grupos. Podemos observar a elevação da pressão arterial sistólica nos animais tratados com L-NAME, que apresentaram aumento estatisticamente significativo quando comparados com o grupo controle (controle (82 ± 4) versus L-NAME (134 ± 5), L-NAME + L-arginina (10mg) (119 ± 8) e L-NAME + L-arginina (30mg) ($119,1 \pm 6$) L-NAME + L-arginina (100mg) (100 ± 2).

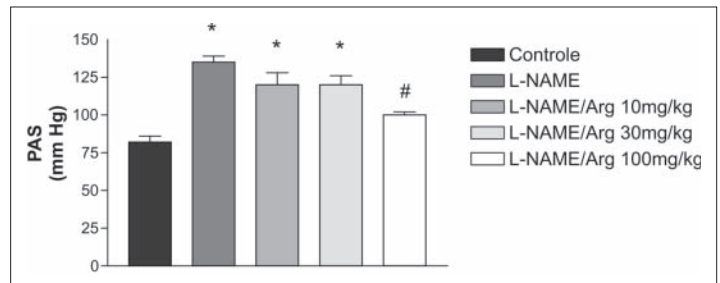


Gráfico 1 – Pressão arterial sistólica em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média \pm EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

O gráfico 2 representa a pressão arterial diastólica em ratos nos diferentes grupos. Podemos observar que a pressão arterial diastólica apresentou aumento estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle (63 ± 5 mm Hg); L-NAME (118 ± 5 mm Hg), L-NAME + L-arginina (10mg) (110 ± 8), L-NAME + L-arginina (30mg) (97 ± 6 mm Hg); L-NAME + L-arginina (100mg) (81 ± 3).

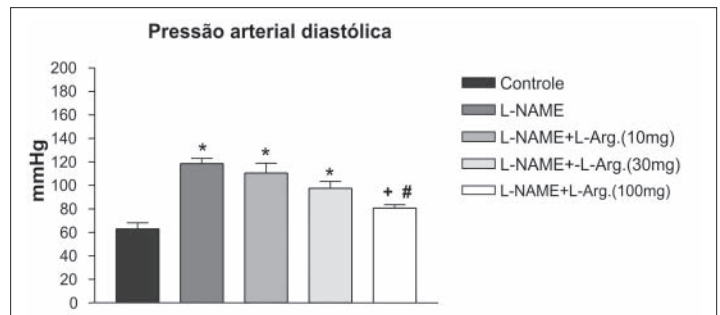


Gráfico 2 – Pressão arterial diastólica em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média \pm EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

O gráfico 3 demonstra a pressão arterial média em ratos nos diferentes grupos. Podemos observar que a pressão arterial média apresentou aumento estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle (controle (77 ± 4); L-NAME (130 ± 4); L-NAME + L-arginina (10mg) (117 ± 8); L-NAME + L-arginina (30mg) (114 ± 6); L-NAME + L-arginina (100mg) (97 ± 2).

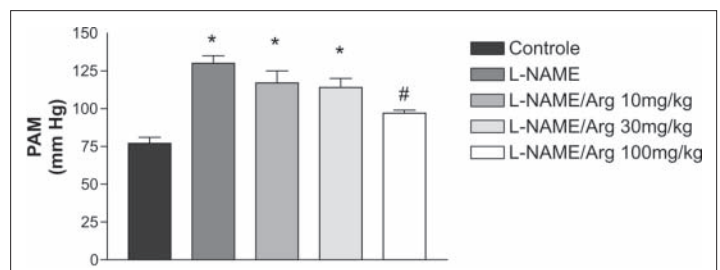


Gráfico 3 – Pressão arterial média em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média \pm EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

Avaliação do efeito da L-arginina de forma preventiva no processo de aumento do trabalho cardíaco (duplo produto) induzido pelo L-NAME

No gráfico 4 podemos observar o duplo produto (indicador de trabalho cardíaco e consumo de oxigênio pelo miocárdio) em ratos nos diferentes grupos. O tratamento com L-NAME foi capaz

de induzir aumento estatisticamente significativo do duplo produto quando comparado com o grupo controle. Controle (19 ± 1) versus o grupo L-NAME (36 ± 2).

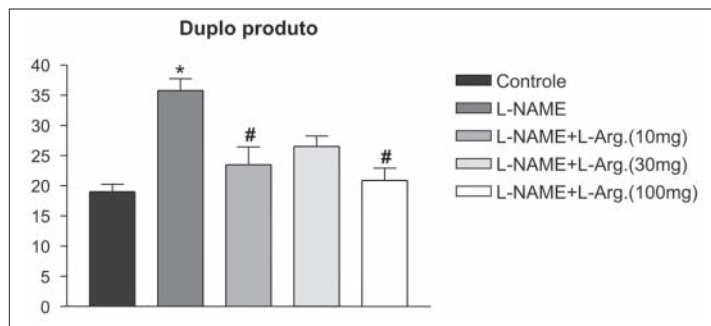


Gráfico 4 – Duplo produto em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média ± EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

Ao compararmos o grupo L-NAME (36 ± 2) em relação ao grupo L-NAME + L-arginina (10mg) (23 ± 3), podemos observar redução significativa do duplo produto nos grupos que receberam o aminoácido L-arginina, o mesmo acontecendo ao grupo L-NAME + L-arginina (100mg) (21 ± 2).

Avaliação do efeito da L-arginina de forma preventiva sobre os pesos cardíacos total e parciais, após os tratamentos com L-NAME e L-arginina

No gráfico 5 podemos observar que o peso cardíaco total em ratos apresentou decréscimo significativo em todos os grupos tratados, quando comparados com o grupo controle.

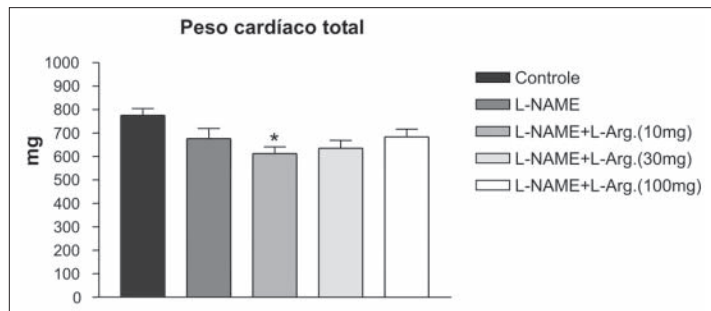


Gráfico 5 – Peso cardíaco total em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média ± EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

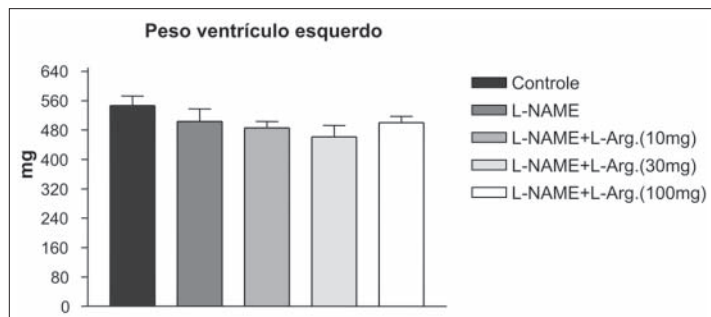


Gráfico 6 – Peso do ventrículo esquerdo em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média ± EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparado com o grupo L-NAME.

No gráfico 6 podemos observar que o peso do ventrículo esquerdo não apresentou alterações estatisticamente significativas em todos os grupos tratados, quando comparados com o grupo controle.

No gráfico 7 também podemos observar que o peso cardíaco relativo não apresentou alterações significativas após os tratamentos, quando comparados com o grupo controle.

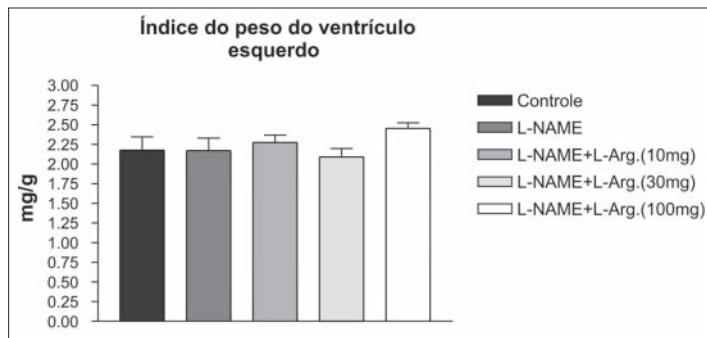


Gráfico 7 – Índice do peso do ventrículo esquerdo em ratos após 28 dias de tratamento com L-NAME e L-arginina. Os dados representam a média ± EPM, $n = 6$, * = $P < 0,05$ quando comparados com o grupo controle, # = $P < 0,05$ quando comparados com o grupo L-NAME.

DISCUSSÃO

Através da descoberta na qual os inibidores da NO-sintase aumentam a atividade vasoconstritora *in vitro*, pesquisadores postularam a hipótese na qual essa inibição poderia induzir a hipertensão *in vivo*. De fato, com a administração crônica de inibidores da NO-sintase, é possível a indução de um efeito pressor de longa duração que se demonstra dependente da dose⁽²⁸⁻³⁴⁾.

De acordo com o trabalho realizado por Ribeiro *et al.*⁽¹³⁾, a administração na forma oral de um análogo da L-arginina, o L-NAME em ratos Wistar por quatro a seis semanas, induz hipertensão severa e progressiva, vasoconstrição e disfunção renal. Segundo os mesmos autores, com uma semana de inibição, a hipertensão pode ser parcialmente revertida por suplementação de altas doses de L-arginina.

Outro trabalho mostrando o efeito hipotensor da L-arginina foi realizado por Wong e Marsden⁽²⁶⁾, em que os autores investigaram o efeito da administração oral de L-arginina na pressão arterial e em alguns parâmetros metabólicos e de coagulação em 6 sujeitos saudáveis, por um período de uma semana. Os resultados indicaram que um moderado aumento da concentração da L-arginina plasmática reduz significativamente a pressão arterial.

Um estudo realizado por Hambrechet *et al.*⁽²⁹⁾ associou a atividade física diária com suplementação oral de L-arginina na dose de 8g diários em pacientes com doenças cardíacas crônicas e chegaram à conclusão de que tanto a atividade física regular como a utilização da L-arginina melhoram as propriedades vasodilatadoras do endotélio e a associação de ambas as intervenções podem melhorar a vasodilatação dependente do endotélio.

Clarkson *et al.*⁽³⁰⁾, em estudo utilizando a suplementação oral da L-arginina, demonstraram que os níveis plasmáticos de L-arginina aumentaram após sua ingestão, assim como a vasodilatação dependente de endotélio. Ainda nessa linha, estudos de nosso grupo com voluntários sadios demonstraram que a suplementação oral de L-arginina foi capaz de aumentar a resistência muscular à fadiga, avaliada através de dinamometria isocinética. Efeito este supostamente atribuído a melhora da circulação local nos membros envolvidos no esforço físico realizado⁽²¹⁾. Esses resultados demonstraram a efetividade da suplementação oral com o aminoácido L-arginina em humanos, provavelmente através de um mecanismo de melhora da vasodilatação na musculatura esquelé-

tica induzida durante o esforço, e conseqüentemente uma melhor adaptação da demanda de sangue e retardo da fadiga muscular localizada.

O aumento da resistência vascular sistêmica ou mesmo localizada é capaz de induzir um aumento compensatório da liberação local do NO que se contrapõe à vasoconstrição, revelando um importante mecanismo fisiológico de regulação do tônus vasomotor e, conseqüentemente, da resistência vascular e pressão arterial. Quando ocorre uma falha na liberação basal ou mesmo estimulada de NO, pode ocorrer o aumento da resistência vascular e, por conseguinte, da pressão arterial. A administração do inibidor da NO-sintase utilizado no presente estudo determinou a elevação da pressão arterial sistêmica, assim como do trabalho cardíaco, avaliado indiretamente pelo cálculo do duplo produto. Como seria normal para um músculo que trabalha contra uma resistência aumentada, demonstrada pelo aumento observado do duplo produto, esperaríamos também um aumento de massa muscular cardíaca, mesmo em um curto período de quatro semanas de tratamento. O duplo produto, podendo ser chamado também de MTTs (*Modified Tension Time Index*), é considerado como um importante parâmetro metabólico que auxilia no cálculo estimado do consumo máximo de oxigênio do miocárdio. O duplo produto é um parâmetro que permite estabelecer uma correlação linear entre o produto da frequência cardíaca e a pressão arterial sistólica máxima (PASmax), com o consumo de oxigênio do miocárdio⁽³¹⁾.

No entanto, este aumento de pressão arterial não foi acompanhado por um aumento da massa cardíaca total e nem mesmo do ventrículo esquerdo, no período analisado. Por outro lado, análises preliminares (não demonstradas neste trabalho) indicam aumento significativo de fibrose intersticial difusa, a qual foi revertida pela administração de L-arginina. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Rossi *et al.*⁽¹⁸⁾, que também não observaram hipertrofia cardíaca ou ventricular esquerda, porém com aumento de fibrose intersticial.

REFERÊNCIAS

1. Stamler J, Neaton J, Wentworth D. Blood pressure and risk of fatal coronary heart disease. *Hypertension*. 1990;13:2-12.
2. MacMahon S, Peto R, Lutler J. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease: Part 1. Prolonged differences in blood pressure. Prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*. 1990;335:765-74.
3. Kannel WB. Potency of vascular risk factors as the basis for antihypertensive therapy. *Eur Heart J*. 1992;13:34-42.
4. Collins R, MacMahon S. Blood pressure stroke and coronary heart disease. *Lancet*. 1990;335:827-38.
5. MacMahon S, Rodgers A. The effects of blood pressure reduction in older patients: an overview of five randomized controlled trials in elderly hypertensives. *Clin Exp Hypertens*. 1993;15:967-78.
6. Bevan JA, Henrion D. Pharmacological implications of the flow-dependence of vascular smooth muscle tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1994;34:173-90.
7. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium – derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86:3375-8.
8. Furchgott RF, Zawadzski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:373-6.
9. Rapoport RM, Murad FA. Agonist induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cyclic GMP. *Circ Rec*. 1983;52:352-7.
10. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327:524-6.
11. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(24):9265-69.
12. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest*. 1992;90:278-81.
13. Ribeiro MO, Antunes E, De Nucci G, Lovislo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension*. 1992; 20:298-303.
14. Numaguchi K, Egashira K, Takemoto M, Kadokami T, Shimokawa H, Sueishi K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis cause coronary microvascular remodeling in rats. *Hypertension*. 1995;26:957-62.
15. Moreno H Jr, Metzke K, Bento AC, Antunes E, Zatz R, de Nucci G. Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. *Basic Res Cardiol*. 1996;91(3):248-55.
16. Bartunek J, Weinberg EO, Tajima M, Rohrbach S, Katz SE, Douglas PS, et al. Chronic N-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension. Novel molecular adaptation to systolic load in absence of hypertrophy. *Circulation*. 2000;101:423-9.
17. Bertanova I, Pechanova O, Pelouch V, Simko F. Regression of chronic L-NAME treatment induced left ventricular hypertrophy: effect of captopril. *J. Mol Cell Cardiol*. 2000;32:177-85.
18. Rossi MA, Ramos SG, Prado CM. Chronic inhibition of nitric oxide synthase induces hypertension and cardiomyocyte mitochondrial and myocardial collagen remodelling in the absence of hypertrophy. *J Hypertens*. 2003;21(5):993-1001.
19. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet*. 1991;338(8782-8783):1546-50.
20. Creager MA, Gallagher SJ, Gierd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1992;90(4):1248-53.
21. Zangaro RA, Pacheco MTT. *Isokinetics and Exercise Science*. 2002;153-8.
22. Forte P, Kneale BJ, Milne E, Chowienicz P, Johnston A, Benjamin N, et al. Evidence for a difference in nitric oxide biosynthesis between healthy women and men. *Hypertension*. 1998;32:730-4.
23. Aisaka K, Gross SS, Griffith OW, Levi RL. Arginine availability determines the duration of acetylcholine-induced systemic vasodilation in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;163:710-7.
24. Rees DD, Palmer RMJ, Schuuls R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthetase in vivo. *Br J Pharmacol*. 1990;101:146-52.
25. Umans JG, Lindheimer MD, Barron WM. Pressor effect of endothelium-derived relaxing factor inhibition in conscious virgin and gravid rats. *Am J Physiol*. 1990; 259:F293-6.
26. Zatz R, De Nucci G. Effect of acute nitric oxide inhibition on glomerular microcirculation. *Am J Physiol*. 1991;261:F360-6.

O modelo experimental de HA com L-NAME provoca uma fibrose (perivascular e intersticial reparativa) e uma desorganização do músculo cardíaco aparentemente mais intensas do que aquelas observadas no modelo renovascular⁽³²⁾.

Alguns resultados encontrados na literatura sugerem que as lesões miocárdicas em animais que foram submetidos ao L-NAME não seriam devidas exclusivamente a HA, mas estariam associadas, principalmente, com a inibição crônica da síntese do óxido nítrico e a lesão do endotélio vascular⁽³²⁻³⁴⁾. Na HA decorrente da administração de L-NAME, o aumento da demanda metabólica miocárdica resultante ocorre concomitantemente com o estreitamento dos microvasos, hipertrofia e necrose de miócitos. Além disso, a produção local de angiotensina II, endotelinas e/ou catecolaminas relacionadas à HA representam papéis importantes na necrose miocárdica e fibrose⁽³⁴⁾.

Tomados em conjunto, os dados apresentados sugerem uma real eficácia da administração oral do aminoácido L-arginina na reversão dos efeitos cardiovasculares induzidos pela inibição da enzima NO-sintase. Além disso, podemos sugerir que a L-arginina possa ser utilizada futuramente como um agente de prevenção de risco cardiovascular, assim como na melhora da *performance* atlética, ou ainda mais, na vigência de protocolos de reabilitação cardíaca ou prevenção de risco cardiovascular em pacientes pós-infarto ou hipertensos. No entanto, estudos de longo prazo se fazem necessários para a confirmação desta hipótese.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP processos 01/03027-1 e 01/14384-8 e ao CNPQ processo 302393/2003-0, que tornaram possível a realização deste trabalho.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

27. Baylis C, Harton P, Engels K. Endothelium-derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol.* 1990;1:875-81.
28. Wong GKT, Marsden PA. Nitric oxide synthases: regulation in disease. *Nefrol Dial Transplant.* 1996;11:215-20.
29. Hambrecht R, Hilbrich L, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, Schoene N, et al. Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: additional effects of exercise training and oral L-arginine supplementation. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(3):706-13.
30. Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredie R, Robinson J, et al. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest.* 1996;97(8):1989-94.
31. Marins JCB, Giannichi RS. Avaliação e prescrição de atividade física. 2ª ed. Rio de Janeiro: Shape, 1999;p.147.
32. Moreno H Jr, Metze K, Bento AC, Antunes E, Zatz R, de Nucci G. Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. *Basic Res Cardiol.* 1996;91(3):248-55.
33. Mandarim-de-Lacerda CA, Pereira LMM. Stereology of the myocardium hypertensive rats under chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Biomed Res.* 1997;8:153-60.
34. Numaguchi K, Egashira K, Takemoto M, Kadokami T, Shimokawa H, Sueishi K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis causes coronary microvascular remodeling in rats. *Hypertension.* 1995;26(6 Pt 1):957-62.