

Dissociação da resposta anti-hipertensiva e metabólica à losartana e espironolactona em ratos com síndrome metabólica experimental

Dissociation of antihypertensive and metabolic response to losartan and spironolactone in experimental rats with metabolic syndrome

Autores

Hussen Machado¹
Helady Sanders Pinheiro¹
Marcella Martins Terra¹
Martha de Oliveira Guerra¹
Rogerio Baumgratz de Paula¹
Vera Maria Peters¹

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora.

RESUMO

Introdução: O tratamento da hipertensão arterial (HA) em indivíduos com síndrome metabólica (SM) é um desafio, uma vez que terapias não medicamentosas são de difícil implementação e o tratamento farmacológico ideal não está totalmente estabelecido. **Objetivo:** Avaliar o bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) na pressão arterial (PA), na função e na morfologia renais em modelo experimental de SM induzida por dieta hiperlipídica. **Métodos:** Ratos Wistar receberam ração hiperlipídica a partir da quarta semana de vida, por 20 semanas. Os grupos tratados receberam Losartana ou Espironolactona a partir da oitava semana de vida. Avaliou-se semanalmente o peso corporal e a PA de cauda por pletismografia. Ao final do experimento, foram realizados testes de tolerância oral à glicose, perfil lipídico, clearance de creatinina, medida direta da PA, análise morfométrica renal. **Resultados:** A administração de dieta hiperlipídica se associou ao desenvolvimento de SM, caracterizada por acúmulo central de gordura, hipertensão arterial, hiperglicemia e hipertrigliceridemia. Nesse modelo não foram observadas alterações da histomorfometria renal. O bloqueio do receptor AT1 da angiotensina II (Ang II) preveniu o desenvolvimento da HA. O bloqueio mineralocorticoide não apresentou eficácia anti-hipertensiva, porém, associou-se à redução da gordura abdominal. **Conclusão:** A dissociação da resposta anti-hipertensiva aos bloqueios dos receptores da Ang II e mineralocorticoide indica a participação da Ang II na gênese da HA associada à obesidade. A redução da obesidade central com a Espironolactona sugere a presença de efeito adipogênico mineralocorticoide.

Palavras-chave: animais, hipertensão, obesidade, sistema renina-angiotensina, síndrome x metabólica.

ABSTRACT

Introduction: The treatment of arterial hypertension (AH) in patients with metabolic syndrome (MS) is a challenge, since non drug therapies are difficult to implement and optimal pharmacological treatment is not fully established. **Objective:** To assess the blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in blood pressure (BP) in renal function and morphology in an experimental model of MS induced by high fat diet. **Methods:** Wistar rats were fed on high fat diet from the fourth week of life, for 20 weeks. The groups received Losartan or Spironolactone from the eighth week of life. We weekly evaluated the body weight and BP by tail plethysmography. At the end of the experiment oral glucose tolerance, lipid profile, creatinine clearance tests, and the direct measurement of BP were performed. A morphometric kidney analysis was performed. **Results:** The administration of high-fat diet was associated with the development of MS, characterized by central fat accumulation, hypertension, hyperglycemia and hypertriglyceridemia. In this model there were no changes in renal histomorphometry. The blockade of angiotensin II (Ang II) receptor AT1 prevented the development of hypertension. The mineralocorticoid blockade did not have antihypertensive efficacy but was associated with reduction of abdominal fat. **Conclusion:** The dissociation of the antihypertensive response to the blockades of Ang II receptors and mineralocorticoid indicates the involvement of Ang II in the pathogenesis of hypertension associated with obesity. Reduction of central obesity with Spironolactone suggests the presence of mineralocorticoid adipogenic effect.

Keywords: animals, hypertension, metabolic syndrome x, obesity, renin-angiotensin system.

Data de submissão: 29/03/2012.
Data de aprovação: 11/08/2012.

Correspondência para:

Hussen Machado.
Centro de Biologia da Reprodução-CBR, Universidade Federal de Juiz de Fora.
Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Campus Universitário, São Pedro, Juiz de Fora, MG, Brasil.
CEP: 36036-900.
E-mail: hussenmachado@hotmail.com

DOI: 10.5935/0101-2800.20120021

INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma epidemia mundial que ocorre em virtude de mudanças econômicas, sociais e demográficas correntes nas diferentes populações. A Organização Mundial da Saúde estima que, atualmente, existam aproximadamente 400 milhões de indivíduos obesos no mundo e que sua prevalência vem aumentando substancialmente nas últimas décadas.^{1,2}

A obesidade é uma doença multifatorial, relacionada a fatores hereditários e, principalmente, a hábitos alimentares inadequados. Esse perfil de modificações no padrão nutricional culmina em um balanço energético positivo, agravado pela associação com o sedentarismo que, em conjunto, contribuem para o desenvolvimento da síndrome metabólica.³

O tecido adiposo acumulado é um órgão metabolicamente ativo, que secreta várias substâncias denominadas adipocinas, com ação inflamatória, hormonal e hemodinâmica. Estas adipocinas, em sua grande maioria, estão relacionadas, direta ou indiretamente, a processos que contribuem para o desenvolvimento de aterosclerose, hipertensão arterial (HA), resistência insulínica (RI), diabetes mellitus (DM) e dislipidemia, ou seja, representam o elo entre adiposidade e síndrome metabólica.^{4,5} Esta é caracterizada pela associação de três ou mais comorbidades que incluem obesidade central, hipertensão arterial, intolerância à glicose, aumento nos níveis de triglicérides e redução nos níveis de colesterol HDL.^{6,7} Em conjunto, estes fatores resultam em elevado risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) e lesão renal, sendo este risco proporcional ao número de componentes da SM.^{8,9}

Até o momento, não existe tratamento específico para SM, no entanto, acredita-se que a abordagem de seus componentes poderia reduzir o risco cardiovascular. Idealmente, este tratamento deveria se basear na redução ponderal, uma vez que esta representa a medida mais eficaz na prevenção do DM, redução do colesterol e dos triglicérides, redução da RI e dos níveis pressóricos.¹⁰ Contudo, o índice de sucesso desta medida terapêutica é baixo, o que demanda a instituição de tratamento específico da dislipidemia, da RI e da HA.¹¹

Um dos maiores desafios para o clínico refere-se ao tratamento da HA em indivíduos com SM. Conforme citado, as medidas não farmacológicas frequentemente são de difícil implementação e o tratamento medicamentoso ainda não está totalmente estabelecido.¹¹

Alguns autores preconizam o uso de diuréticos, o que pode interferir em parâmetros metabólicos, enquanto outros sugerem a importância de fármacos que não interfiram nesses parâmetros, tais como os bloqueadores dos canais de cálcio e os inibidores do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA).¹²⁻¹⁴

Nos últimos anos tem sido sugerida participação da aldosterona na gênese da HA associada à obesidade. Estudo em cães¹⁵ e em ratos Sprague-Dawley¹⁶ demonstraram que o bloqueio desse sistema preveniu o aumento da PA, assim como a lesão vascular induzida pela aldosterona. No entanto, em ambos os estudos, os animais apresentavam balanço positivo de sódio, fator recém-descrito como mediador da ação vasculotóxica da aldosterona.¹⁷

O bloqueio do SRAA parece eficaz para o controle da HA, bem como da hipertrigliceridemia e da RI.^{18,19} Todavia, os estudos disponíveis são escassos e envolvem apenas um número pequeno de pacientes, o que, portanto, não permite a generalização dessa estratégia para o tratamento da HA associada à SM.^{11,20}

A utilização de modelos experimentais de SM constitui uma alternativa para estudo de mecanismos causais e para a avaliação do tratamento com medicações anti-hipertensivas. Dentre estes modelos, os que são induzidos por modificações dietéticas são os que melhor reproduzem as alterações metabólicas da obesidade humana, incluindo dislipidemia, intolerância à glicose e hiperinsulinemia.²¹⁻²³

No presente estudo avaliou-se o bloqueio da angiotensina e da aldosterona sobre a pressão arterial, função e morfologia renais em um modelo experimental de SM induzida por dieta hiperlipídica.

MÉTODOS

MODELO EXPERIMENTAL

Ratos Wistar machos com 4 semanas, fornecidos pelo Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da Universidade Federal de Juiz de Fora foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de 12 animais. No grupo controle (C), os animais foram alimentados com dieta comercial Nuvital® (Nuvilab, Colombo, PR, Brasil), normocalórica (carboidrato 68%, proteína 19%, lipídios 3,5%, fibras 4,5%, vitaminas e minerais 5%, 370 Kcal/100g) durante 20 semanas. No grupo hiperlipídico (H) os animais foram alimentados, pelo mesmo tempo, com dieta hiperlipídica pré-fabricada (PragSoluções Comércio e Serviços Ltda,

Jaú, SP, Brasil), contendo: carboidrato 35%, proteína 19%, lipídios 36,5%, fibras 4,5%, vitaminas e minerais 5%, 524 Kcal/100g (Tabela 1).

TABELA 1 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DA DIETA HIPERLIPÍDICA (G/KG)

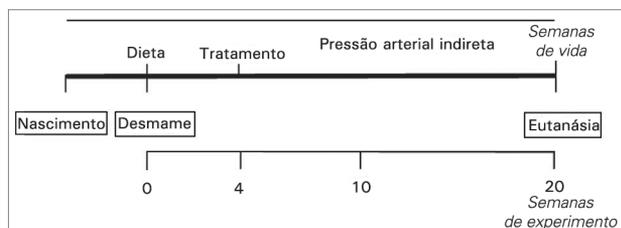
Ingredientes	Gramas/Kg
Amido de milho	200
Farelo de soja	300
Banha	190
Ac. Graxo saturado	158,5
Ac. Graxo insaturado	70
Fibra	30
L cistina	3,88
Cloreto colina	2,58
BHT (antioxidante)	0,014
Mix mineral*	35
Mix vitamínico [#]	10
TOTAL	999,974
Kcal Total:	5240
Kcal Lipídio	65%

* Mix Mineral (g/kg mix) contém: 30,5g MgSO₄.7H₂O; 65,2g NaCl; 105,7g KCl; 200,2g KH₂PO₄; 38,8g MgCO₃.Mg(OH)₂.3H₂O; 40g FeC₆H₅O₇.5H₂O; 516,4g CaCO₃; 0,8g KI; 0,9 g NaF; 1,4g CuSO₄.5H₂O; 0,4g MnSO₄ e 0,05g CoNO₃.

[#] Mix Vitamínico (g/kg mix) contém: 3g Tiamina mononitrato; 3g riboflavina; 3,5g piridoxina HCl; 15g nicotinamida, 8g pantotenato de cálcio, 1g ácido fólico; 0,1g biotina; 0,005g cianocobalamina; 0,013g acetomenaphone, 0,6g acetato de vitamina A, 25g D-RRR- acetato tocoferol e 10g cloreto de colina.

Nos grupos hiperlipídico/Losartana (H+L) e hiperlipídico/Espironolactona (H+E), os animais receberam a mesma dieta do grupo (H) e a partir da oitava semana de vida, os animais do grupo H+L receberam 10 mg/kg/dia de Losartana (Merck S.A, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e os animais do grupo H+E receberam 40 mg/kg/dia de Espironolactona (Pfizer S.R.L, Buenos Aires, Argentina) por gavagem, uma vez ao dia, durante 16 semanas (Figura 1).

Figura 1. Desenho experimental.



Todos os animais foram acompanhados durante 20 semanas. Vinte e quatro horas precedendo a eutanásia, a urina foi coletada em gaiola metabólica e os

animais foram submetidos a implante de cateter para medida da pressão arterial direta e teste de tolerância oral a glicose. A eutanásia foi realizada por exsanguinação sob anestesia com cetamina (90 mg/kg ip.) e xilazina (10 mg/kg ip.) (König SA[®], Avellaneda, Argentina). Foram colhidos sangue e rim no momento da eutanásia (Figura 1).

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (N^o 001/2009).

OBESIDADE

Consideramos os animais como obesos quando a diferença de peso entre os grupos com dieta hiperlipídica (H, H+L e H+A) foi significativa em relação ao grupo controle (C).^{24,25} Decorridas 20 semanas de experimento, após eutanásia com cetamina, xilazina e exsanguinação, foi realizada lipectomia abdominal bilateral e obteve-se o peso (g) do tecido adiposo retroperitoneal (RET), epididimários (EP) direito e esquerdo. Estes parâmetros foram utilizados como critério de obesidade visceral.²⁴

Para o cálculo de consumo alimentar (g) e energético (Kcal/dia), os animais foram pesados e alocados individualmente em gaiolas metabólicas, com quantidades fixas de dieta, uma vez por semana, por um período de 24 horas.

PRESSÃO ARTERIAL

MÉTODO INDIRETO

A pressão arterial sistólica (PAS) foi determinada em mmHg, semanalmente, utilizando o método não invasivo da pletismografia de cauda (Pletismógrafo LE5001; Panlab[®], Barcelona, Espanha). Após pré-condicionamento na câmara de contenção, os animais foram pré-aquecidos a 35 ± 2°C por 5 minutos e foram obtidas dez leituras consecutivas. A medida individual da pressão arterial foi calculada pela média das leituras obtidas.²⁶

MÉTODO DIRETO

As medidas diretas de PAS e pressão arterial diastólica (PAD) foram obtidas em mmHg, 20 semanas após o início do experimento, por canulação da artéria femoral direita, realizada sob anestesia com cetamina (90 mg/kg ip.) e xilazina (10 mg/kg ip.) (König SA[®], Avellaneda, Argentina). Vinte e quatro horas após a cirurgia, o registro da pressão arterial

foi realizado pelo método da pressão arterial pulsátil, utilizando-se o transdutor de pressão ML865-25T (ADInstruments®, Sydney, Austrália).²⁷

LIPÍDEOS

Avaliaram-se os níveis séricos de triglicérides e colesterol total, 20 semanas após o início das dietas, no momento da eutanásia, após 8 horas de jejum, utilizando kits comerciais (Labtest®, Lagoa Santa, Brasil).

TESTE DE TOLERÂNCIA ORAL A GLICOSE (TTOG)

Dezenove semanas após início da dieta, em todos os grupos, foi coletado sangue da cânula de medida da pressão arterial (jejum de 8 horas) para a dosagem de glicose no T_0 (Tempo zero). Solução de glicose a 50% foi administrada por gavagem, na dose de 2 g/Kg de peso. Subsequentemente, amostras de sangue foram coletadas nos tempos T_1 (15 min), T_2 (30 min), T_3 (60 min) e T_4 (120 min) e todas as amostras foram analisadas em glicosímetro (MediSence, Abbot®, Chicago, USA). A área sob a curva foi calculada utilizando-se o software Origin 3.5 (Microcal Software, Northhampton, MA).²⁸

A glicose sérica foi também dosada no momento da eutanásia, por kit comercial (Labtest®, Lagoa Santa, Brasil).

FUNÇÃO RENAL

No término do experimento, em todos os grupos, no momento da eutanásia, foi coletado sangue (jejum de 8 horas) para dosagem sérica da creatinina (Cr). A creatinina urinária foi dosada na urina de 24h colhida em gaiola metabólica neste mesmo ponto. Os ensaios foram realizados com Kits comerciais (Labtest®, Lagoa Santa, Brasil), em analisador automático Labmax progress (Labtest®, Lagoa Santa, Brasil).

Após coleta individual de urina (24 horas), o *clearance* de creatinina (Ccr) foi calculado com base na Cr urinária, Cr sérica, volume de urina em 24h e peso corporal, usando a seguinte equação: $Ccr \text{ (ml/min/kg)} = [Cr \text{ urinária (mg/dL)} \times \text{volume urinário (mL)}] / Cr \text{ sérica (mg/dL)} [1000/\text{peso corporal (g)}] [1/1440 \text{ (min)}]$.²⁹

MORFOLOGIA RENAL

O rim direito foi seccionado transversalmente e fixado em Formol Cálcio de Backer, posteriormente embebido em parafina e seccionado a 5µm de espessura, e corados com hematoxilina-eosina, para avaliar a morfologia glomerular.

Foram avaliadas por morfometria a área e volume glomerulares. A área glomerular foi quantificada no aumento de 400x. Selecionaram-se apenas glomérulos em que se identificou o polo vascular no corte estudado para medições de área, para garantir que os glomérulos medidos fossem seccionados em planos similares. As imagens glomerulares foram digitalizadas usando microscópio óptico Zeiss Axiophot HBO50, equipado com câmera Axicam ICc3 (Carl Zeiss®, Jena, Alemanha). Após a digitalização, o tufo glomerular foi identificado e a área foi calculada em µm² utilizando o software de análise (Optimas 5.1; Optimas Corporation, Seattle, WA). Vinte glomérulos corticais foram medidos em cada animal, seis animais por grupo. O volume glomerular (VG) foi calculado a partir da área transversal do tufo glomerular (TG), utilizando a fórmula - $VG = \beta/\kappa (TG)^{3/2}$ onde $\beta = 1,38$ coeficiente da esfera e $\kappa = 1,1$ coeficiente de distribuição de tamanho.³⁰

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados como média e desvio padrão. A distribuição da amostra foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnoff. Os grupos controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student. Os grupos hiperlipídicos foram comparados pelo teste de variância ANOVA bicaudal, post hoc pelo teste de Dunnet. O nível de significância assumido foi $p < 0,05$. O programa SPSS 15.0 foi usado em todas as análises (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

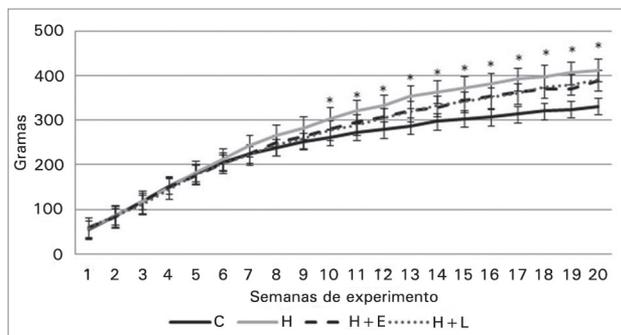
RESULTADOS

OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA

A despeito da diferença da composição dietética, com maior percentagem de lipídeos nos grupos H, a ingestão energética foi semelhante entre os grupos (Tabela 1). Ao longo das 20 semanas de estudo, todos os animais ganharam peso. Na 10ª semana de experimento, os animais do grupo H apresentaram ganho de peso 17,5% superior ao grupo C ($p < 0,001$). A partir deste ponto, os grupos H, H+L e H+E mantiveram-se com peso superior ao grupo C, não diferindo entre si. Ao final do experimento, essa porcentagem atingiu 22,8% superior ao grupo C nos três grupos experimentais ($p < 0,001$, Figura 2).

Além do aumento no peso corporal, os grupos H, H+E e H+L desenvolveram acúmulo de gordura visceral e epididimária ao final do experimento

Figura 2. Peso corporal dos grupos estudados. - Dados apresentados em média \pm erro padrão. Peso corporal apresentado como média das avaliações semanais nos diferentes pontos. Os grupos controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ grupo controle vs. grupo H (teste de *t* Student).



(Tabela 2). Comparando os grupos, apenas o grupo H+E apresentou acúmulo de gordura retroperitoneal menor $11,0 \pm 2,3$ vs. $14,8 \pm 3,1$ g quando comparado ao grupo H ($p < 0,01$).

A partir da 17ª semana de experimentação, o grupo H apresentou elevação da PAS (Figura 3). Esse aumento foi confirmado na 20ª semana após aferição direta da pressão arterial, onde o grupo H apresentou aumento significativo em relação ao grupo C ($159,0 \pm 10,1$ vs. $118,7 \pm 8,4$ mmHg, $p < 0,001$). O mesmo comportamento foi observado na PAD ($94,3 \pm 8,5$ vs. $83,2 \pm 6,2$ mmHg, $p < 0,001$ (Figura 4).

Em relação ao perfil metabólico, observou-se aumento dos níveis de triglicérides nos animais submetidos à dieta hiperlipídica ($53,8 \pm 12,4$ mg/dL vs. $28,0 \pm 4,8$ mg/dL) nos grupos H e C, respectivamente ($p \leq 0,001$). Os níveis de colesterol não se alteraram ($67,6 \pm 4,69$ mg/dL vs. $63,2 \pm 9,2$ mg/dL), Tabela 2. A glicemia de jejum não diferiu nos grupos C e H, porém, um aumento significativo da glicemia no grupo H foi observado 120 minutos após sobrecarga de glicose (Tabela 2). Além disso, a área sob a

curva glicêmica do grupo H foi significativamente maior que a do grupo C no TOTG (15885 ± 1837 vs. 21449 ± 3692).

TRATAMENTOS

PRESSÃO ARTERIAL

A PAS permaneceu elevada ao longo de todo o experimento nos grupos H e H+E. Por outro lado, no grupo tratado com losartana (grupo H+L), ocorreu redução significativa desta a partir do início do tratamento (Figura 3).

PERFIL METABÓLICO

Os níveis de triglicérides não se alteraram com os tratamentos, porém, no grupo H+L observou-se aumento nos níveis do colesterol em comparação ao grupo H ($p < 0,001$), como demonstrado na Tabela 3.

Também não foi observada alteração no perfil glicêmico (glicemia de jejum, área sob a curva glicêmica) nos animais submetidos a tratamento hipotensor (Tabela 3 e Figura 5).

FUNÇÃO E MORFOLOGIA RENAIIS

Ao final do estudo, a filtração glomerular avaliada por meio do *clearance* de creatinina não apresentou alteração significativa entre os grupos. O mesmo foi observado em relação ao volume e área glomerulares (Tabela 4).

DISCUSSÃO

A epidemia de obesidade observada nas últimas décadas tem tomado proporções alarmantes. Estima-se que 48% da população brasileira apresenta sobrepeso e cerca de 15% é classificada como obesa.³¹ A obesidade cursa com diversas alterações metabólicas, inflamatórias e humorais que se associam ao desenvolvimento de neoplasias, diabetes mellitus,

TABELA 2 CONSUMO ENERGÉTICO, PESO DO TECIDO ADIPOSORETROPERITONEAL E EPIDIDIMÁRIO, NOS GRUPOS DE ESTUDO

	(C)	(H)	(H+E)	(H+L)
	N = 12	N = 12	N = 12	N = 12
Ingestão diária (g/dia)	17,0 \pm 2,4	13,1 \pm 2,3*	13,0 \pm 2,2	13,4 \pm 2,2
Ingestão energética (Kcal/dia)	63,1 \pm 8,9	68,3 \pm 12,1	67,6 \pm 11,3	69,8 \pm 11,6
Gordura retroperitoneal (g)	5,4 \pm 1,8	14,9 \pm 3,8*	11,0 \pm 2,3#	14,4 \pm 4,2
Gordura epididimária (g)	2,5 \pm 0,6	6,6 \pm 1,4*	5,4 \pm 1,0	6,9 \pm 1,9

Dados apresentados em média \pm desvio padrão. Ingestas diárias e energéticas apresentadas como média das avaliações semanais a partir da 1ª semana do experimento. Gordura epididimária e retroperitoneal pesadas no momento da eutanásia ao final do estudo. Os grupos controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos entre si por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle (teste de *t* Student). # $p \leq 0,05$ vs. grupo hiperlipídico (teste de Dunnet).

Figura 3. Níveis pressóricos, por medida indireta, dos grupos estudados. - Dados apresentados em média \pm desvio padrão. PAS apresentada como média, da média individual de 10 leituras obtidas. O grupo controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ grupo H vs. grupo controle (teste de *t* Student). # $p \leq 0,05$ grupo H+L vs. grupo hiperlipídico (teste de Dunnet).

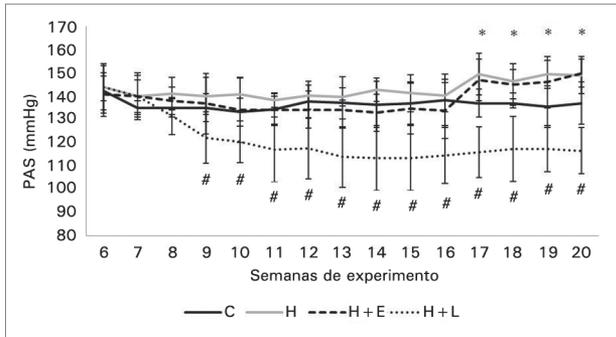
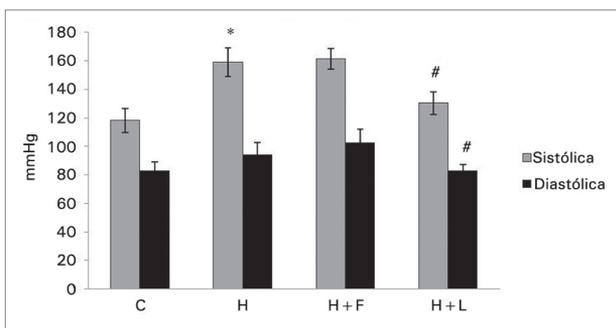


Figura 4. Níveis pressóricos, por medida direta, dos grupos estudados na 20ª semana de estudo. - Dados apresentados em média \pm desvio padrão. O grupo controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ grupo H vs. grupo controle (teste de *t* Student). # $p \leq 0,05$ grupo H+L vs. grupo hiperlipídico (teste de Dunnet).



dislipidemia e hipertensão arterial. A maioria dos pacientes com hipertensão apresentam sobrepeso ou obesidade e os resultados de estudos epidemiológicos sugerem que 65% a 75% do risco para a HA essencial humana pode ser diretamente atribuído ao excesso peso corporal.³²

Nessa população, o tratamento medicamentoso da HA tem como objetivo reduzir a morbidade e a mortalidade cardiovascular e renal, além de prevenir o agravamento metabólico.¹¹ Algumas evidências clínicas e experimentais com o bloqueio do SRAA sugerem a participação efetiva desse sistema na gênese da HA e da lesão renal.^{12,15} Essa estratégia parece ser promissora, uma vez que estudos mostraram atenuação de outros componentes da SM, por exemplo, da hipertrigliceridemia, com o bloqueio do SRAA.^{12,18} Todavia, os estudos disponíveis não trazem evidências clínicas suficientes para a generalização dessa estratégia para o tratamento da HA associada a SM por meio da administração de bloqueadores do SRAA. Deste modo, a utilização de modelos experimentais constitui uma alternativa para o conhecimento sob a eficácia dos vários esquemas de tratamento hipotensor na SM.^{11,20}

Há diversos modelos experimentais de obesidade descritos. Estes variam desde modelos genéticos, como ratos Zucker e camundongos *knockout*, passando por modelos que utilizam lesão de áreas hipotalâmicas relacionadas ao crescimento e por modelos induzidos por dietas hiperlipídicas em cães, coelhos e camundongos, assim como em ratos Sprague-Dawley.³³

Por outro lado, em ratos Wistar poucos são os relatos de indução de obesidade com o intuito de estudo da SM.^{23,34} No presente estudo, a administração de dieta rica em lipídios por um período de 20 semanas induziu obesidade, hipertrigliceridemia, alterações glicídicas e HA em ratos Wistar, achados compatíveis com diagnóstico da SM. A despeito do consumo energético semelhante, a composição diferenciada da dieta, rica em lipídios, foi responsável pelo surgimento da SM.²⁵

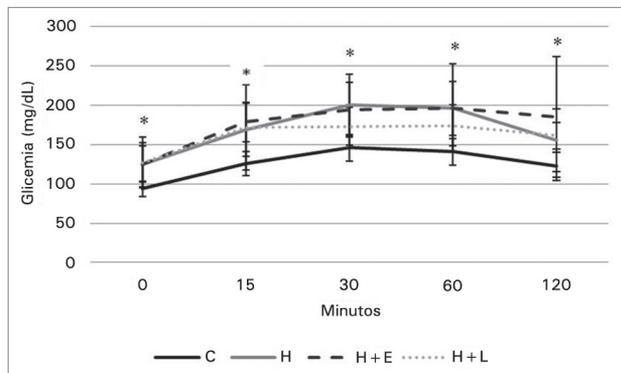
A importância da utilização de modelos experimentais que se assemelhem ao perfil da SM observada em seres humanos é inquestionável, dada a

TABELA 3 COLESTEROL TOTAL, TRIGLICÉRIDES, ÁREA SOBRE A CURVA, GLICOSE/JEJUM E GLICOSE/120 MIN DOS GRUPOS ESTUDADOS NA 20ª SEMANA DE ESTUDO

	(C)	(H)	(H+E)	(H+L)
	N = 11	N = 9	N = 11	N = 9
Colesterol Total (mg/dL)	67,6 \pm 4,6	63,2 \pm 9,2	73,0 \pm 21,1	84,3 \pm 10,2#
Triglicerídeos (mg/dL)	28,0 \pm 4,8	53,8 \pm 12,4*	59,7 \pm 14,8	57,3 \pm 12,8
Área sob a curva (glic vs. t)	15885 \pm 1837	21449 \pm 3692*	22329 \pm 5597	20097 \pm 2786
Glicose/jejum (mg/dL)	142,9 \pm 13,3	143,5 \pm 20,2	141,6 \pm 23,2	137,3 \pm 31,0

Glic: Glicemia; t: tempo. Dados apresentados em média \pm desvio padrão. O grupo controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle (teste de *t* Student). # $p \leq 0,05$ vs. grupo hiperlipídico (teste de Dunnet).

Figura 5. Perfil glicêmico dos grupos estudados, após sobrecarga de glicose. - Dados apresentados em média \pm desvio padrão. Os grupos controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet. * $p \leq 0,05$ grupo controle vs. grupo H (teste de *t* Student).



escassez de recomendações para o tratamento dessa síndrome em seres humanos. Atualmente, a abordagem terapêutica é realizada com base na tentativa de redução de peso corporal e/ou no tratamento farmacológico das comorbidades que compõem a síndrome. Especificamente em relação à HA associada à obesidade, apesar do relativo conhecimento de seus mecanismos causais, o tratamento ainda não está bem estabelecido, não existindo diretrizes específicas para a abordagem da HA nessa população. De modo geral, têm sido preconizadas medicações que não interfiram no perfil metabólico e que contemplem mecanismos fisiopatogênicos, tais como a hiperatividade simpática, a retenção de sódio e o bloqueio do SRAA.^{11,35}

No presente estudo, a administração de dieta hiperlipídica e normossódica a ratos Wistar se associou com o desenvolvimento de HA (Figura 3). Nesses animais, o tratamento com Losartana preveniu o desenvolvimento da HA, achado indicativo da importância do SRAA na gênese da HA de ratos obesos. Esses dados são compatíveis com a literatura e confirmam a importância desse sistema na gênese da HA, bem como em sua progressão.³⁶

Por outro lado, o tratamento com o antagonista mineralocorticoide não preveniu a elevação da PA associada à SM no presente estudo. Esse dado é discordante de estudo prévio realizado por nosso grupo em cães obesos, no qual se demonstrou a importância da aldosterona na gênese da HA associada à obesidade.¹⁵ Também em seres humanos com SM, a administração de espironolactona em monoterapia reduziu a PA de modo significativo, sugerindo a importância clínica desse sistema hormonal na HA neste contexto. Além da redução pressórica, o tratamento associou-se à melhora no perfil glicídico e lipídico, achado clinicamente relevante dadas as características dos indivíduos avaliados.¹⁸

A discrepância entre o presente estudo e dados de estudos anteriores de nosso grupo poderia ser atribuída a diferenças entre espécies, dietas ou ao tempo de exposição dos animais à obesidade. Outro aspecto que poderia ter interferido nessa dissociação seria a dose de Espironolactona utilizada, que eventualmente poderia ter sido baixa. No entanto, essa possibilidade não nos parece provável, uma vez que em estudo anterior observamos redução significativa da PA de indivíduos com SM tratados com apenas 25 a 50 mg de Espironolactona. Nesse estudo, a ação hipotensora foi atribuída a prováveis efeitos não genômicos.¹⁸ Do mesmo modo, que o observado no estudo *Rales*, no qual se demonstrou que o tratamento com Espironolactona em baixa dose (25 mg/dia) se associou a diminuição de hospitalizações, mortalidade e melhora nos sintomas de pacientes com insuficiência cardíaca grave.³⁷

Além disso, estudos recentes sugerem que a aldosterona induziria lesão vascular e HA apenas na vigência do consumo aumentado de sódio. O sódio atua sinergisticamente na ativação do receptor mineralocorticoide (RM) pela aldosterona, aumentando a expressão de citocinas e mediadores pró-inflamatórios com Cox-2, MCP-1 e osteopontina responsáveis pelo

TABELA 4 CLEARANCE DE CREATININA, ÁREA DO TUFO E VOLUME GLOMERULARES DOS GRUPOS ESTUDADOS NA 20ª SEMANA DE ESTUDO

	(C)	(H)	(H+E)	(H+L)
	N = 11	N = 9	N = 11	N = 9
Clearance Creatinina (mL/min/kg)	3,2 \pm 0,5	3,0 \pm 0,3	3,5 \pm 1,0	3,2 \pm 1,2
	N = 6	N = 6	N = 6	N = 6
Área do tufo glomerular ($\times 10^2 \mu\text{m}^2$)	63 \pm 9	59 \pm 5	63 \pm 11	66 \pm 5
Volume glomerular ($\times 10^4 \mu\text{m}^3$)	64 \pm 13	58 \pm 13	64 \pm 16	68 \pm 8

Dados apresentados em média \pm desvio padrão. O grupo controle e hiperlipídico foram comparados pelo teste *t* de Student e os grupos hiperlipídicos, entre si, por ANOVA e teste de Dunnet.

desenvolvimento de microalbuminúria, vasculopatia e HA.¹⁷ Rocha *et al.* demonstraram que a ativação dos RM pela administração concomitante de aldosterona e sódio agravou a intensidade das lesões coronarianas e da HA em ratos Sprague-Dawley; entretanto, na ausência de um dos agonistas ou na presença de um antagonista mineralocorticoide, menor ação vasculotóxica e hipertensiva foi observada.¹⁶ Considerando que a dieta utilizada no presente estudo foi normossódica, esse fato poderia justificar a ausência de efeito hipotensor da espirolactona e, assim, a discrepância entre nossos dados de outros estudos, em que o bloqueio do RM com eplerenone melhorou drasticamente a hipertensão arterial e a proteinúria, além de reverter a lesão dos podócitos em ratos SHR submetidos a dietas hipersódicas.¹⁷ A contrapartida clínica dessa observação pode ser vista em populações de índios Yanomami, onde altas concentrações plasmáticas de aldosterona não são capazes de elevar PA nestes indivíduos devido a uma baixa ingestão de sódio na dieta.³⁸

No presente estudo, a administração de Losartana ou Espirolactona não alterou significativamente os perfis metabólicos e glicídicos dos animais. Por outro lado, o grupo tratado com espirolactona apresentou redução significativa de 25% na gordura retroperitoneal. Efeitos semelhantes foram descritos em camundongos C57BL/6 com SM.³⁹ Nesse estudo, camundongos obesos tratados com Espirolactona apresentaram redução significativa da gordura epididimária. Esse achado foi atribuído à inibição da expansão clonal, da diferenciação e do acúmulo de triglicerídeos nos adipócitos, bem como pela diminuição na expressão do PPAR γ pelo bloqueio dos receptores mineralocorticoides.^{20,39}

Não observamos alterações na função renal, avaliada pela creatinina e pela depuração de creatinina, bem como na histologia renal. Estes dados são discordantes de outros autores, que descrevem lesão renal em modelos experimentais de obesidade, em geral caracterizadas por aumento da filtração glomerular, proteinúria e aumento do volume glomerular.^{15,40} Embora tenha sido avaliada, a proteinúria não foi incluída no estudo por termos encontrado dificuldades técnicas e de interpretação, que inviabilizaram a utilização dos resultados obtidos. Vale, por outro lado, especular que a não observação de alterações histológicas glomerulares possa ter sido secundária ao pouco tempo de exposição dos animais à obesidade e aos níveis pressóricos apenas ligeiramente elevados. Essa possibilidade parece provável se considerarmos que o

dano renal da obesidade em ratos Wistar ocorre apenas em animais senis.⁴⁰ Outra consideração importante é a de que não podemos descartar totalmente uma nefropatia mais incipiente, uma vez que não avaliamos indicadores de lesão em fase mais precoce, como a expressão de mediadores inflamatórios, de fatores de crescimento e de proteínas marcadores de transição epitélio mesenquimal.

Em conclusão, o bloqueio do SRAA em ratos Wistar com SM demonstrou ser uma medida eficaz na redução da pressão arterial, quando o bloqueio se dá ao nível de receptores da angiotensina II. Porém, a mesma eficácia hipotensora não foi observada no bloqueio de receptores mineralocorticoides, que tiveram, por outro lado, sua atividade adipogênica inibida, o que preveniu o acúmulo de gordura abdominal.

REFERÊNCIAS

- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA* 2006;295:1549-55.
- World Health Organization. Obesity and overweight: what are overweight and obesity? Report of a WHO Consultation. Geneva; 2006. WHO Technical Report.
- Klimcakova E, Kovacicova M, Stich V, Langin D. Adipokines and dietary interventions in human obesity. *Obes Rev* 2010;11:446-56.
- Hall JE. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2000;2:139-47.
- Vlasova M, Purhonen AK, Jarvelin MR, Rodilla E, Pascual J, Herzig KH. Role of adipokines in obesity-associated hypertension. *Acta Physiol (Oxf)* 2010;200:107-27.
- Simmons RK, Alberti KG, Gale EA, Colagiuri S, Tuomilehto J, Qiao Q, et al. The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation. *Diabetologia* 2010;53:600-5.
- Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM; Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and the prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes Care* 2003;52:1210-4.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001;24:683-9.
- Grundey M, Brewer Jr. HB, Cleeman Jr. JI, Smith SC Jr, Lenfant C; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433-8.
- Ezequiel DGA, Costa MB, Chaoubah A, de Paula RB. Efeito da perda de peso sobre a hemodinâmica renal em portadores da síndrome metabólica. *J Bras Nefrol* 2012;34:36-42.
- I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005;84:1-28.
- The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial. Major outcomes in high-risk hypertensive patients to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002;288:2981-97.

13. Williams SA, Michelson EL, Cain VA, Yang M, Nesbitt SD, Egan BM, et al; Trophy Study Investigators. An evaluation of the effects of an angiotensin receptor blocker on health-related quality of life in patients with high-normal blood pressure (prehypertension) in the Trial of Preventing Hypertension (TROPHY). *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2008;10:436-42.
14. Lubsen J, Wagener G, Kirwan BA, de Brouwer S, Poole-Wilson PA; ACTION (A Coronary disease Trial Investigating Outcome with Nifedipine GITS) investigators. Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular morbidity in patients with symptomatic stable angina and hypertension: the ACTION trial. *J Hypertens* 2005;23:641-8.
15. De Paula RB, da Silva AA, Hall JE. Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration. *Hypertension* 2004;43:41-7.
16. Rocha R, Martin-Berger CL, Yang P, Scherrer R, Delyani J, McMahon E. Selective aldosterone blockade prevents angiotensin II/salt-induced vascular inflammation in the rat heart. *Endocrinology* 2002;143:4828-36.
17. Fujita T. Mineralocorticoid receptors, salt-sensitive hypertension, and metabolic syndrome. *Hypertension* 2010;55:813-8.
18. Costa MB, Andrade Ezequiel DG, Morais Lovis JC, Oliveira MM, Baumgratz de Paula R. Aldosterone antagonist decreases blood pressure and improves metabolic parameters in obese patients with the metabolic syndrome. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2010;12:753-5.
19. de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2010;100:525-34.
20. Caprio M, Antelmi A, Chetrite G, Muscat A, Mammi C, Marzolla V, et al. Antiadipogenic effects of the mineralocorticoid receptor antagonist drospirenone: potential implications for the treatment of metabolic syndrome. *Endocrinology* 2011;152:113-25.
21. Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2000;35:1009-15.
22. Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;31:27-35.
23. Shen C, Zhu Z, Yan Z, Ni Y. P-513: High fat plus high salt diet induced metabolic syndrome in wistar rat. *Am J Hypertens* 2004;17:220A.
24. Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Nogueira CR, Novelli EL, et al. Misclassification probability as obese or lean in hypercaloric and normocaloric diet. *Biol Res* 2008;41:253-9.
25. Dourmashkin JT, Chang GQ, Gayles EC, Hill JO, Fried SK, Julien C, et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:1368-78.
26. Machado H, Guerra MO, Peters V. Implantação e padronização da técnica de aferição indireta da pressão arterial em ratos Wistar da colônia do biotério do Centro de Biologia da Reprodução (CBR). *RIEE* 2010;2:60-1.
27. Raji IA, Mugabo P, Obikeze K. Effect of *Tulbaghia violacea* on the blood pressure and heart rate in male spontaneously hypertensive Wistar rats. *J Ethnopharmacol* 2012 140:98-106.
28. Marchionne EM, Diamond-Stanic MK, Prasonnarong M, Henriksen EJ. Chronic renin inhibition with aliskiren improves glucose tolerance, insulin sensitivity, and skeletal muscle glucose transport activity in obese Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012;302:R137-42.
29. Yamabe N, Kang KS, Goto E, Tanaka T, Yokozawa T. Beneficial effect of Corni Fructus, a constituent of Hachimi-jio-gan, on advanced glycation end-product-mediated renal injury in Streptozotocin-treated diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 2007;30:520-6.
30. Zheng S, Noonan WT, Metreveli NS, Coventry S, Kralik PM, Carlson EC, et al. Development of late-stage diabetic nephropathy in OVE26 diabetic mice. *Diabetes* 2004;53:3248-57.
31. Brasil. Vigitel Brasil 2010: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. - Brasília: Ministério da Saúde, 2011.152p.
32. Garrison RJ, Kannel WB, Stokes J 3rd, Castelli WP. Incidence and precursors of hypertension in young adults: the Framingham Offspring Study. *Prev Med* 1987;16:235-51.
33. Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:351982.
34. Ferreira LBD, Cesaretti MLR, Voltera AF, Ginoza M, Kohlmann Junior O. Effects of the overlapping between an experimental model of neuroendocrine obesity with arterial hypertension under blood pressure, body weight and metabolic and renal parameters in rats. *J Bras Nefrol* 2011;33:338-44.
35. Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2010;95:1-51.
36. Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension* 2003;41:625-33.
37. Pitt B, Zannad F, Remme JW, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:709-17.
38. Mancilha-Carvalho JJ, Souza e Silva NA. The Yanomami Indians in the INTERSALT Study. *Arq Bras Cardiol* 2003;80:295-300.
39. Marzolla V, Armani A, Zennaro MC, Cinti F, Mammi C, Fabbri A, et al. The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 2012;350:281-8.
40. Aguila MB, Mandarim-De-Lacerda CA. Effects of chronic high fat diets on renal function and cortical structure in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2003;55:187-95.