AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE VASCULAR AÓRTICA EM DIFERENTES PERÍODOS DE DEFICIÊNCIA HORMONAL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

Willian Bergamo de Moura[1]*; Tagana Rosa da Cunha[1]; Jocimar José Pitol[1]; Roger Lyrio dos Santos[1].

(1) Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. *e-mail para correspondência: willianbergamo9@gmail.com

Palavras-chave: Aorta. Wistar. Prejuízo vascular. Menopausa.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) representam a principal causa de morbidade e mortalidade mundialmente, sendo mais prevalente em homens. Contudo, após a menopausa a incidência de DCV aumenta em mulheres, indicando assim que os hormônios sexuais parecem desempenhar um papel cardioprotetor no sexo feminino (MOSCA et al., 2011).

A menopausa ocorre em decorrência da cessação da produção de hormônios ovarianos, caracterizando o fim da menstruação e fertilidade. Na perimenopausa são comuns sintomas como ondas de calor, alterações de humor e na pós menopausa há aumento do risco de osteoporose e doenças cardiovasculares (NORTH AMERICAN MENOPAUSE SOCIETY, 2017). O aumento da incidência de DCV parece ter relação com a ausência de hormônios ovarianos que ocorre após a menopausa.

Dessa forma, é sugerido que esses hormônios sexuais atuam na vasomotricidade, regulando o tônus dos vasos sanguíneos por ações sobre o músculo liso e o endotélio. Este último representando uma camada unicelular que reveste o lúmen dos vasos e libera substâncias vasomotoras em resposta a estímulos específicos. Dentre tais substâncias, temos os fatores de relaxamento derivados do endotélio (EDRFs), como o óxido nítrico (NO), a prostaciclina (PGI_2), e a ação da hiperpolarização dependente do endotélio (EDH), bem como os fatores de contração derivados do endotélio (EDCFs), como endotelinas, endoperóxidos (prostaglandina H2 e tromboxano A2), e algumas espécies reativas de oxigênio. Tanto EDRFs quanto EDCFs têm sua produção e liberação modulada por hormônios sexuais femininos (BATLOUNI, 2001; PANG et al., 2013).

Vale ressaltar que mudanças no endotélio, decorrentes da deficiência de hormônios ovarianos, podem mediar o início e progressão de eventos clínicos que afetam o sistema cardiovascular. (RAJENDRAN et al., 2013). Assim, o modelo experimental de fêmeas ovariectomizadas é utilizado para mimetizar a deficiência hormonal semelhante à que ocorre em mulheres na pós menopausa, contribuindo para estudos dos efeitos dos hormônios sexuais no tônus e reatividade vascular. No entanto, ainda não há um consenso sobre o tempo necessário para verificar possíveis alterações nos vasos após a ovariectomia. Trabalhamos com a hipótese de que as alterações da aorta serão proporcionais ao tempo de ovariectomia. Não obstante, esse trabalho visa contribuir para futuras tomadas de decisões sobre o tempo ideal após a ovariectomia, para um modelo eficiente de deficiência hormonal.

METODOLOGIA:

Os protocolos foram previamente aprovados pela CEUA-UFES (#18/2022). Foram utilizadas ratas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) adultas, fornecidas pelo Biotério do Centro de Ciências da Saúde – (CCS) da Universidade Federal do Espírito Santo.

Foram separadas em quatro grupos experimentais, de acordo com o tempo que permaneceram em deficiência hormonal (OVX 7, OVX 15, OVX 21 e OVX 30 dias).

No procedimento de ovariectomia, as ratas com 8 semanas, foram submetidas a uma combinação de Cetamina (70 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg), seguido de uma injeção subcutânea de analgésico/anti-inflamatório (Flunixin 5 % - 0,1 mL). Assim, foi realizada uma tricotomia na lateral do corpo, entre a coxa e as costelas, uma incisão na pele, seguida por uma incisão no músculo e uma externalização do ovário. Uma linha absorvível foi amarrada na tuba uterina e o ovário foi removido. Após finalizado o processo com a sutura do músculo e da pele, o mesmo procedimento foi realizado no lado oposto (CLAUDIO et al., 2013).

As ratas foram eutanasiadas por decapitação, sob anestesia. A caixa torácica foi aberta, a aorta descendente foi localizada, dissecada e cortada em anéis de aproximadamente 2 a 3 mm. Em seguida, montados no aparelho de aorta, em cubas preenchidas com solução de Krebs-Henseleit (composição em mM: NaCl 124; KCl 4,6; $CaCl_2$. $2H_2O$ 2,5; MgSO4. $7H_2O$ 1,2; KH_2PO_4 1,2; EDTA 0,01; $NaHCO_3$ 23; Glicose 11), para nutri-los, recebendo uma mistura carbogênica (95 % O_2 e 5 % CO_2).

Realizamos reatividade vascular a curvas crescentes de fenilefrina (10^{-10} a 10^{-4} M), visando verificar a capacidade do músculo liso na contração, acetilcolina (10^{-11} a 10^{-5} M), verificando a ação do endotélio na via do relaxamento, e nitroprussiato de sódio 10^{-11} a 10^{-5} M), verificando a capacidade do músculo liso na resposta dilatadora.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Analisamos a resposta vasoconstritora por meio da ação da fenilefrina no músculo liso vascular dos quatro grupos experimentais e observamos uma menor contração nas curvas de 15 e 30 dias em relação a 7 dias, demonstrando assim que houve alteração na resposta do músculo liso a partir de 15 dias de ovariectomia. Ao contrário do que vimos, Garcia, et al., (2010), demonstraram que após 35 dias de ovariectomia, as ratas apresentavam aumento da resposta contrátil em relação ao grupo controle, caracterizando uma disfunção no músculo liso mais tardia, enquanto encontramos essa resposta mais cedo.

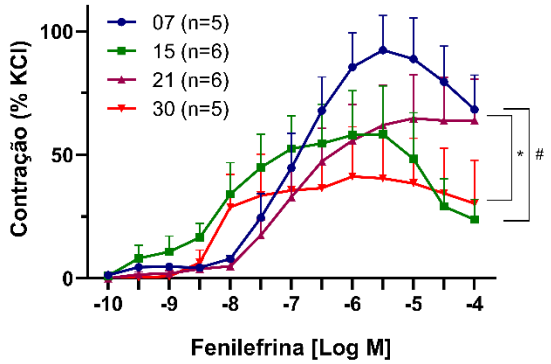


Figura 1: Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis isolados de aorta. Os dados foram expressos como média ± EPM e as diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de *post hoc* de Tukey. *p < 0,05 em comparação entre os grupos 7 e 15 dias, #p < 0,05 em comparação entre 7 e 30 dias.

Em seguida, analisamos a resposta vasodilatadora por meio da acetilcolina, contudo, não houve diferença entre os grupos. Dessa forma, sugerimos que o endotélio não sofreu alterações até 30 dias. O estudo de Yung, et al., (2011), encontrou diferença no grupo

castrado em relação ao grupo controle após 8 semanas de ovariectomia, entretanto em Sagredo, et al. (2013), observaram que em 5 meses de ovariectomia não foram encontradas diferenças em relação ao grupo controle, sugerindo assim que alterações no endotélio poderiam ser encontradas com um tempo maior que 30 dias de deficiência hormonal.

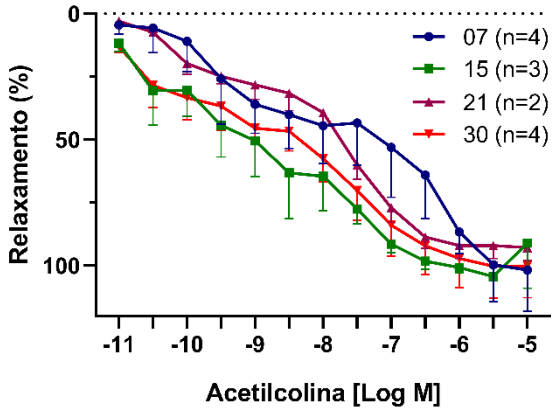


Figura 2: Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis isolados de aorta. Os dados foram expressos como média ± EPM e as diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de *post hoc* de Tukey.

Continuando a análise, utilizamos nitroprussiato de sódio para verificar a resposta vasodilatadora direta do músculo liso vascular. Apenas não encontramos diferença entre 15 e 30, e entre 7 e 21 dias. Desse modo, as curvas de 15 e 30 dias obtiveram redução na resposta dilatadora, sugerindo que a partir de 15 dias, a reatividade do músculo liso já estaria alterada, levando a mudanças na resposta. Contudo, o resultado de Yung, et al., (2011), demonstrou que os grupos ovariectomizados de 4, 8 e 12 semanas não sofreram alterações em relação ao grupo controle, sugerindo que o músculo liso está sendo alterado em um tempo bem curto após a deficiência hormonal.

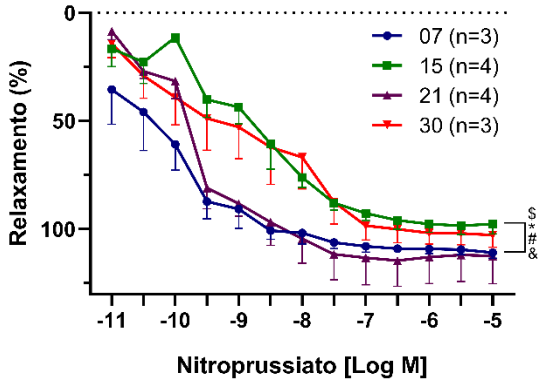


Figura 3: Curvas concentração-resposta ao nitroprussiato de sódio em anéis isolados de aorta. Os dados foram expressos como média ± EPM e as diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de *post hoc* de Tukey. *p < 0,05 entre os grupos 7 e 15 dias, #p < 0,05 em comparação entre os grupos 7 e 30 dias, $p < 0,05 em comparação entre os grupos 15 e 21 dias, &p < 0,05 em comparação entre os grupos 21 e 30 dias.

CONCLUSÃO:

Desse modo, sugerimos que pesquisas que utilizam modelos de deficiência hormonal induzida por ovariectomia considerem no mínimo 15 dias após a cirurgia. Essas descobertas podem ajudar a aprofundar o entendimento sobre os hormônios sexuais na reatividade vascular da aorta e desenvolvimento de modelos experimentais para a deficiência hormonal.

REFERÊNCIAS:

BATLOUNI, M. **Endotélio e hipertensão arterial**. Revista Brasileira de Hipertensão, v. 8, n. 3, p. 328-338, set. 2001.

CLAUDIO, E. R. G.; et al. **Effects of chronic swimming training and estrogen therapy on coronary vascular reactivity and expression of antioxidant enzymes in ovariectomized rats**. Plos One, v. 8, n. 6, p. e64806, jun. 2013.

GARCIA, A. S. R. **Ação moduladora da tibolona no sistema de peptídeos natriuréticos: implicações cardiovasculares e imunológicas**. 2010. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

MOSCA, L.; et al. **Sex/gender differences in cardiovascular disease prevention: what a difference a decade makes**. Circulation, v.124, n.19, p. 2145-2154, nov. 2011.

PANG Y, et al. **Progesterone increases nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells through activation membrane progesterone receptor-α**. American Journal Physiology Endocrinology Metabolism, v. 308, n. 10, p. 899-911, maio. 2015.

RAJENDRAN, P; et al. **The vascular endothelium and human diseases**. International Journal Biological Sciences, v. 9, n. 10, p. 1057-1069, nov. 2013.

SAGREDO, A., et al. **Ovariectomy increases the participation of hyperpolarizing mechanisms in the relaxation of rat aorta.** Plos one, v. 8, n. 9, e. 73474.

THE NORTH AMERICAN MENOPAUSE SOCIETY. **The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society**. Menopause, v. 24, n. 7, p. 728–753, jul. 2017.

YUNG, L., M., et al. **Inhibition of Renin-Angiotensin System Reverses Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress in Estrogen Deficient Rats**. Plos One, v. 6, n. 3, e. 17437. Mar 2011.