

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

LUCIANA BARBOSA FIRMES

**ALTERAÇÕES NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA E DE
PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS INDUZIDAS PELA
OVARIECTOMIA E ENVELHECIMENTO EM RATAS WISTAR**

Tese de doutorado apresentada
ao Programa de pós-graduação em
Ciências Biológicas – Fisiologia e
Farmacologia, Departamento de
Fisiologia e Biofísica do Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Minas Gerais para
obtenção do grau de Doutor(a) em
Ciências Biológicas - Fisiologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adelina Martha dos Reis

Belo Horizonte – MG

Junho – 2012

Esse trabalho foi realizado no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Além disso, parte dos dados foi obtida na Wake Forest University – School of Medicine, em Winston-Salem, NC, Estados Unidos, sob orientação da Dr. K. B. Brosnihan, durante o período de doutorado sanduíche. O trabalho foi realizado na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais.

RESUMO

Objetivo: A ovariectomia tem sido o modelo mais utilizado em roedores para se avaliar os efeitos da redução hormonal observada na menopausa. No entanto, esse modelo não discrimina o impacto específico da redução dos hormônios ovarianos do envelhecimento para modelo de menopausa. A proposta desse estudo foi comparar os efeitos da ovariectomia (OVX) em ratas jovens ou senescentes sobre o peso corporal e a pressão arterial (PA), e a associação com o sistema de peptídeos natriuréticos (SPN) e sistema renina angiotensina (SRA).

Métodos: Ratas Wistar jovens (3 meses de idade) e idosas foram ovariectomizadas (OVX). A pressão arterial (PA), medida por pletismografia de cauda, e o peso corporal foram acompanhados por cinco meses. Quando completaram, respectivamente, 8 e 21 meses de idade, as ratas foram decapitadas e o sangue foi coletado para determinação de ANP, angiotensinas, leptina e insulina por radioimunoensaio (RIE) e de estradiol, por ELISA. Os apêndices atriais foram coletados para determinação de ANP por RIE e quantificação da expressão de ANP por Real Time PCR. Rins e tecidos adiposos foram coletados, pesados e mantidos em freezer -80°C para quantificação de angiotensinas por RIE. A expressão de componentes do sistema renina angiotensina também foi avaliada nos rins.

Resultados: Após cinco meses de castração, um grande aumento do peso corporal foi observado, principalmente nas ratas jovens, associado ao aumento de leptina. Foi observado aumento do peso dos tecidos adiposos (parametrial, retroperitoneal e inguinal) nas ratas jovens OVX, mas somente o tecido adiposo inguinal aumentou nas ratas idosas. Nenhum efeito da ovariectomia em ratas de ambas as idades foi observado sobre a PA ao fim do experimento, porém as ratas idosas exibiram uma elevação de PA nas primeiras semanas após a OVX. A concentração plasmática de ANP não foi afetada pela castração, mas apresentou-se elevada nas ratas idosas em comparação com as jovens. O envelhecimento foi responsável pela elevação da concentração de angiotensinas no rim, mas por outro

lado causou redução da expressão de ECA, ECA2, angiotensinogênio e renina. A OVX causou elevação generalizada dos peptídeos nos tecidos adiposos de ratas jovens e idosas associada ao aumento de seu peso.

Conclusão: Enquanto a idade tem um destacado papel nas modificações do SPN sistêmico e SRA renal, a ovariectomia é um importante fator na variação do SRA do tecido adiposo. Assim, o envelhecimento e a perda hormonal atuam diferente e complementarmente nos efeitos observados nesse modelo de menopausa.

Palavras-chaves: sistema de peptídeos natriuréticos, sistema renina angiotensina, ovariectomia, pressão arterial, tecido adiposo.

ABSTRACT

Objective: Ovariectomy (OVX) has been the primary rodent model to examine effects of ovarian hormone loss observed in menopause. However, this model does not discriminate the specific impact of loss of ovarian hormone and aging for menopause model. The purpose of this study was to compare the effect of ovariectomy (OVX) in young and aged rats on body weight, mean blood pressure (MBP), Natriuretic Peptides (SPN) and Renin Angiotensin System (RAS).

Methods: Young (3 months) and old (16 months) female Wistar rats were ovariectomized (OVX). Blood pressure (measured by tail cuff) and body weight were followed for 5 months. At 8 and 21 months of age the animals were decapitated and the blood was collected for measurement of ANP, angiotensins, leptin and insulin by RIA. Estradiol was evaluated by ELISA. Atrial appendages were excised for determination of ANP by RIA and quantification of ANP mRNA expression by Real Time PCR. Kidneys and adipose tissues were excised, weighed and frozen for angiotensins measurements by RIAs. The expression of renin angiotensin system components was also accessed by Real Time PCR on kidney.

Results: After 5 months of OVX, a great increase in body weight was observed in young rats mainly, associated to a leptin enhance. Increase of adipose tissues weight (parametrial, retroperitoneal and inguinal) was observed after OVX in young rats but only inguinal adipose tissue was increased in aged rats. No effect of OVX on BP was observed in young or aged rats at the end of the experiment, but aged rats showed an increase in BP during the first weeks after OVX. Plasma ANP was not affected by OVX but was higher in old than in young rats. A specific age-dependent increase of all angiotensins was observed in the kidney. However, aging reduced ACE, ACE2, angiotensinogen and renin expressions in the kidney. In general OVX resulted in an increase of angiotensin peptides in adipose tissues in both young and old rats associated to it increase of weight.

Conclusion: Whereas age has an important role in the changes of systemic SPN and in renal RAS, ovariectomy is an important factor in the variation of adipose

tissue RAS. Thus, aging and estrogen-reduction play different and complementary roles on the effects observed in the menopause models used in this study.

Key-words: natriuretic peptide system, renin angiotensin system, ovariectomy, blood pressure, adipose tissue.