



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROLOGIA
MESTRADO EM NEUROLOGIA

MARCELA RODRIGUES MOREIRA GUIMARÃES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ALFA-TOCOFEROL EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS COM PROPENSÃO AO
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO (SHRSP)**

RIO DE JANEIRO
2010

MARCELA RODRIGUES MOREIRA GUIMARÃES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ALFA-TOCOFEROL EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS COM PROPENSÃO AO
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO (SHRSP)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Neurologia, área de concentração Neurociências.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Lucia Marques
Alves Vianna

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto
Basílio de Oliveira

RIO DE JANEIRO
2010

616.8
G963e

Guimarães, Marcela Rodrigues Moreira,
Efeitos fisiológicos da suplementação de alfa-tocoferol em ratos espontaneamente hipertensos com propensão ao acidente vascular encefálico (SHRSP). / Marcela Rodrigues Moreira Guimarães - Rio de Janeiro, 2010.

61 f.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Lucia Marques Alves Vianna.
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Basílio de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Mestrado em Neurologia, 2010.

1. Alfa-tocoferol. 2. Acidente Vascular Encefálico. 3. Hipertensão. 4. Estresse oxidativo. 5. Ratos SHRSP. I. Vianna, Lucia Marques Alves. II. Basílio-de-Oliveira, Carlos Alberto. III. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. IV. Título.

MARCELA RODRIGUES MOREIRA GUIMARÃES

**EFEITOS FISIOLÓGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ALFA-TOCOFEROL EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS COM PROPENSÃO AO
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO (SHRSP)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Neurologia, área de concentração Neurociências.

Aprovada em: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Lucia Marques Alves Vianna
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Prof. Dr. Jorge José de Carvalho
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os colegas do Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico Degenerativas e do Mestrado em Neurologia e a todos os docentes de minha jornada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, Paulo Roberto Moreira Guimarães e Elizabeth Rodrigues Moreira Guimarães, aos meus irmãos Guilherme Rodrigues Moreira Guimarães e Paula Rodrigues Moreira Guimarães e ao meu namorado Rafael Riera de Farias, pela dedicação, amor e compreensão em momentos difíceis. Aos meus amigos, que me ajudaram a superar grandes obstáculos.

Agradeço também a todos os amigos do curso de mestrado e do Laboratório de Investigação em Doenças Crônicas - Degenerativas, em especial à Leonardo Borges Murad e à Rafael Braune de Castro pelo apoio técnico-científico na confecção desta dissertação.

A todos os docentes da Pós Graduação em Neurologia, em especial à Professora Dr^a. Regina Maria Papais Alvarenga, por transmitirem seus ensinamentos e contribuírem para meu crescimento tanto profissional quanto pessoal.

Ao Luiz Eduardo, secretário da Neurologia, pela sua competência e também pela sua paciência em ajudar em todos os momentos.

Agradeço ao meu co-orientador, Professor Dr. Carlos Alberto Basílio de Oliveira, pela oportunidade de fazer parte da minha pesquisa no Laboratório de Clínica Patológica e assim, contribuir para acrescentar meus conhecimentos. A todos da equipe do Laboratório meus agradecimentos, principalmente à médica Aline Paganelli, pelo apoio em todos os momentos.

Principalmente, meus agradecimentos vão a minha orientadora, Professora Dr^a Lucia Marques Vianna, que me deu a oportunidade da realização acadêmica e da introdução à vida científica e que também me faz evoluir com sua sabedoria.

A todos, o meu sincero obrigada.

“A ciência não pode prever o que vai acontecer. Só pode prever a probabilidade de algo acontecer”.

(César Lattes)

RESUMO

O rato hipertenso com propensão ao acidente vascular encefálico (SHRSP) é um modelo animal para a disfunção endotelial, estresse oxidativo, hipertensão arterial e acidente vascular encefálico. O alfa-tocoferol, um potente antioxidante, foi suplementado nesse modelo animal. Foram utilizados 12 ratos SHRSP, divididos em 2 grupos, tratado e controle, (n = 6, cada). Os parâmetros avaliados foram: peso, diurese, ingestão de ração e água, pressão arterial sistólica, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, malondialdeído (MDA), parâmetros neurológicos (teste de memória, de equilíbrio, de força e termo-sensório-motor) e toxicidade hepática. A suplementação com alfa-tocoferol reduziu significativamente ($p < 0,05$), níveis de colesterol total e LDL-colesterol, a pressão arterial sistólica e níveis de malondialdeído. O HDL-colesterol aumentou significativamente no grupo tratado. Os níveis de triglicerídeos, parâmetros biológicos e neurológicos não apresentaram modificações entre os grupos. Assim, o alfa-tocoferol pode ser considerado um potente agente anti-hipertensivo, antioxidante e hipocolesterolêmico, em ratos hipertensos com propensão ao acidente vascular encefálico.

Palavras-chave: Alfa-tocoferol. Acidente vascular encefálico. Hipertensão. Estresse oxidativo. Ratos SHRSP.

ABSTRACT

The stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP) is an animal model for endothelial dysfunction, oxidative stress, hypertension and stroke. Alpha-tocopherol, a powerful lipid-soluble antioxidant, was supplemented in these animal models through of the experimentation of twelve rats SHRSP, divided in treated and control groups (n=6, each). The measured parameters were: body weight, diuresis, intake of food and water, systolic blood pressure, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, malondialdehyde (MDA) and neurological conditions (memory, equilibrium, strength and thermo-sensory-motors test). Alpha-tocopherol supplementation reduced significantly ($p < 0.05$) total cholesterol, LDL-cholesterol, systolic blood pressure, malondialdehyde levels. HDL-cholesterol was increased in treated group. Triglycerides levels, biological and neurological parameters did not present alteration. Thus, alpha-tocopherol can be considered a potential antihypertensive, antioxidant and hypocholesterolemic agent in animal models of hypertension and stroke.

Key-words: Alpha-tocopherol. Stroke. Hypertension. Oxidative stress. SHRSP Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Representação química do alfa-tocoferol	30
Figura 2	Gaiola metabólica	32
Figura 3	Gavagem orogástrica	33
Figura 4	Caixa de aquecimento	34
Figura 5	Plestimógrafo	34
Figura 6	Plestimógrafo	34
Figura 7	Teste cognitivo	35
Figura 8	Plano Inclinado	36
Figura 9	Barra de equilíbrio	36
Figura 10	Viga de equilíbrio	37
Figura 11	Termo-sensório-motor	38
Gráfico 1	Média ± desvio padrão da pressão arterial sistólica dos grupos controle (n=6) e tratado (n=6) ao longo das semanas de experimento (*p<0,05)	41
Gráfico 2	Colesterol total (média ± desvio padrão) entre os grupos. *p<0,05	42
Gráfico 3	LDL-colesterol (média ± desvio padrão) entre os grupos. *p<0,05	42
Gráfico 4	HDL-colesterol (média ± desvio padrão) entre os grupos. *p<0,05	43
Gráfico 5	Média ± desvio padrão dos triglicerídeos plasmáticos	43
Gráfico 6	Níveis de malondialdeído plasmático (média ± desvio padrão) entre os grupos. *p<0,05	44
Gráfico 7	Peso do fígado entre os grupos (média ± desvio padrão)	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Média \pm desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do grupo tratado (n=6) e do grupo controle (n=6), ao final do experimento ...	40
Tabela 2	Média \pm desvio padrão dos exames neurológicos de ratos SHRSP tratados com alfa - tocoferol comparados aos ratos controle	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGPI-OOH	Ácidos graxos poliinsaturados hidróxido peróxido
all-rac-tocoferol	Forma racêmica do alfa-tocoferol
α -TTP	Proteína de transferência de alfa-tocoferol
AVE	Acidente vascular encefálico
c-NOS	Enzima óxido nítrico sintase constitutiva
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EROS	Espécies reativas de oxigênio
e-NOS	Enzima óxido nítrico sintase endotelial
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
i-NOS	Enzima óxido nítrico sintase induzível
LCAT	Lecitina-colesterol acil transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL _n	Lipoproteína de baixa densidade nativa
LDL-ox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LINDCD	Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônicas Degenerativas
LPL	Lipase de lipoproteínas
MDA	Malondialdeído
NADH/NADPH oxidase	Adenosina nicotinamida dinucleotídeo fosfato oxidase
NO	Óxido nítrico
O ₂ ⁻	Superóxido
OH ⁻	Radical hidroxil
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO ⁻	Peroxinitrito
RRR-tocoferol	Forma natural do alfa-tocoferol
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SHR-Db	Ratos espontaneamente hipertensos induzidos ao diabetes
SHRSP	Ratos espontaneamente hipertensos com propensão ao AVE
SRA	Sistema renina angiotensina

SOD	Superóxido dismutase
UI	Unidade internacional
VLDL	Lipoproteínas de densidade muito baixa
WKY	Ratos normotensos Wistar Kyoto
XÔ	Xantina oxidase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO	16
3.2	HIPERTENSÃO ARTERIAL E DOENÇAS VASCULARES	17
3.3	DISLIPIDEMIA E DOENÇAS VASCULARES	19
3.4	ESTRESSE OXIDATIVO	21
3.5	VITAMINA E	26
3.6	MODELO SHRSP	30
4	METODOLOGIA	32
4.1	ANIMAIS E DIETA	32
4.2	AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS GERAIS	33
4.3	DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL	33
4.4	TESTES NEUROLÓGICOS	35
4.4.1	Teste cognitivo (teste de memória - labirinto)	35
4.4.2	Plano Inclinado	35
4.4.3	Barra de equilíbrio (tempo de agarre das patas)	36
4.4.4	Viga de equilíbrio	37
4.4.5	Termo-sensório-motor	37
4.5	SACRIFÍCIO	38
4.6	DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO	38
4.7	MARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO	38
4.8	TOXICIDADE HEPÁTICA	39
4.9	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	39
5	RESULTADOS	40
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE) é uma das principais causas de morte em países desenvolvidos, além de ser uma das principais causas de incapacidades a longo prazo, aumentando, assim, os encargos das relações econômicas no futuro (TORNWALL et al., 2004). Não somente nos países desenvolvidos, o AVE é um dos maiores problemas de saúde pública nos países da América Latina e do Caribe (LAVADOS et al., 2007). A Organização Mundial de Saúde (OMS), tem estimado que entre 1990 a 2020 haverá no mundo um aumento na mortalidade pelo acidente vascular encefálico de 78% em mulheres e 106% em homens (HUANG, 2007).

Contudo, apesar das perspectivas mundiais, estudos apontaram que no Brasil houve um declínio da mortalidade por AVE nas regiões sul, sudeste e centro-oeste. No entanto, na região nordeste do país foi relatado um aumento da mortalidade por esta enfermidade (DE SOUZA et al., 2006). Independentemente dos casos fatais, o AVE é uma doença prevalente e os sobreviventes requerem uma reabilitação prolongada e cuidados crônicos, sendo os tratamentos efetivos limitados (LEE; FOLSOM; BLAIR, 2003).

Dentro deste quadro, é importante o entendimento etiopatológico da doença e a prevenção dos fatores de risco.

A hipertensão arterial é um dos fatores de risco mais importante para o desenvolvimento de doenças vasculares, sendo responsável por 40% das mortes por acidente vascular encefálico e 25% daquelas por doença arterial coronariana. Estima-se que 22% a 68% da população adulta mundial apresentem hipertensão arterial. No Brasil, na última década, foram realizados diversos inquéritos populacionais em amostras representativas, que indicaram variações na prevalência de hipertensão arterial entre 22% a 44% da população adulta (FUNCCHS; CASTRO; FUNCCHS, 2004).

Além da hipertensão arterial, as dislipidemias também são um dos principais fatores de risco para as doenças vasculares. Alguns estudos randomizados e controlados com placebo, demonstraram que o aumento do colesterol total e do LDL-colesterol aumenta a incidência de eventos vasculares (MOREIRA et al., 2005). Adicionalmente, os tradicionais fatores de risco, como o fumo e o diabetes são relacionados com a disfunção endotelial (DUVALL, 2005).

Atualmente, há também fortes evidências da implicação do estresse oxidativo na etiopatogenia das disfunções vasculares em geral (PAWLAK; PAWLAW; MYSLIWILEC, 2005). Contudo, uma série de estudos tem sido realizada com a finalidade de identificar terapias alternativas para o tratamento dessas doenças, que incluem a possível ação de nutrientes protetores do endotélio vascular (BORGES et al., 1999, 2002).

Na realidade, o cérebro é um grande consumidor de oxigênio do corpo e a atividade das enzimas antioxidantes parece ser relativamente baixa. Isso contribui para que o cérebro seja alvo do dano oxidativo e explica como o estresse oxidativo poderia estar envolvido na gênese de doenças neurológicas agudas ou crônicas (VIANNA, 2005).

Em adição, Nanetti e colaboradores (2007), descreveram que a atividade antioxidante do plasma poderia ser um importante fator de proteção cerebral. Interessantemente, algumas evidências têm indicado os efeitos benéficos dos nutrientes antioxidantes em isquemias cerebrais (IKEDA; NEGISHI; YAMORI, 2003), com possibilidades de combinar terapias incluindo estas substâncias, nas fases aguda e convalescente do AVE (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005), sendo até mesmo utilizados no tratamento dos fatores de risco ligados a doença (DE CHAMPLAIN et al, 2004).

Neste contexto, a vitamina E tem sido estudada há mais de 50 anos e vem sendo considerada um potente antioxidante lipossolúvel presente nas células (PRYOR, 2000), tendo a possibilidade de exercer ação benéfica sobre o sistema cardiovascular. Em adição, no modelo de estudo da hipertensão arterial essencial, com ratos SHR, e utilizando o modelo hipertenso e diabético com ratos SHR-Db, já foi demonstrado o efeito hipotensor desta vitamina (COSTA et al., 2005; COSTA; VIANNA, 2005). Entretanto, no modelo de hipertensão mais severa e que se constitui em propensão ao acidente vascular encefálico, empregando-se ratos SHRSP, a literatura ainda é escassa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se a administração de alfa-tocoferol em ratos espontaneamente hipertensos com propensão ao acidente vascular encefálico (SHRSP) interfere em alguns dos fatores de risco associados ao AVE.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar o possível efeito dessa suplementação:

- Sobre os parâmetros biológicos nutricionais (peso, diurese, ingestão hídrica e de ração);
- Na pressão arterial sistólica;
- No perfil lipídico sérico (colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicerídios);
- Na modulação do estresse oxidativo (mensuração do malondialdeído plasmático);
- Na função neurológica (teste de memória, de equilíbrio, de força e termo-sensório-motor).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

O acidente vascular encefálico é a principal causa de incapacidade física e está apenas atrás da doença isquêmica cardíaca em causa de morte nos países desenvolvidos. A incidência do acidente vascular encefálico aumenta exponencialmente com a idade, mas varia entre os países. Aproximadamente 15 milhões de pessoas sofrem AVE a cada ano, e mesmo com os avanços nos medicamentos, 5 milhões de pacientes vão morrer e ao menos 5 milhões ficarão com algum tipo de incapacidade. Dos 3 milhões de americanos que sobreviveram a um AVE, ao menos 2 milhões vão sustentar alguma incapacidade, que custará a nação cerca de 40 bilhões de dólares por ano (JORDAN et al., 2007).

O acidente vascular encefálico não é uma doença simples, pode ser isquêmico ou hemorrágico, sendo que a formação é quase que comum (JORDAN et al., 2007). Pesquisadores relataram que aproximadamente 75% dos acidentes vasculares encefálicos são isquêmicos, 15% consiste em hemorragia intracerebral, 5% em hemorragia subaracnóidea e 5% pertence a outros tipos (THRIFT et al., 2001). O bloqueio embólico dos vasos sanguíneos é a causa mais freqüente do AVE isquêmico e pode envolver pequenas ou grandes artérias, ser intracranial ou extracranial e outros mecanismos com trombose local ou hipoperfusão podem ocorrer (JORDAN et al., 2007).

A incidência de AVE hemorrágico intracerebral varia de 15/100000 e 60/100000, dependendo da origem étnica dos estudos (INAGAWA et al., 2003; FLAHERTY et al., 2005). O risco dos afro-americanos sofrerem um AVE hemorrágico intracerebral é aproximadamente o dobro do risco dos americanos brancos, particularmente em idades jovens e em pacientes hipertensos (FLAHERTY et al., 2005).

As hemorragias intracerebrais são geralmente classificadas de acordo com a localização da hemorragia e se é uma hemorragia primária ou secundária. O local da hemorragia é dividido em lobos, profundidade, tronco encefálico ou cerebelar. Cerca da metade das hemorragias é localizada profundamente nos gânglios da base, cerca de um terço é lombar, enquanto o restante está localizado na fossa craniana posterior (MAYER; RINCON, 2005). O local do hematoma pode fornecer uma

indicação se representa uma hemorragia primária ou secundária. As causas secundárias são aneurisma, malformação arteriovenosa, malformação cavernosa, tumor cerebral, coagulopatias, trombose venosa sinusal e angiopatia amilóide, bem como outras doenças (RENNING et al., 2008).

O AVE isquêmico é um processo dinâmico que envolve uma série de mecanismos exocitotóxicos, inflamatórios e microvasculares que conduzem a necrose tecidual. No entanto, alguns tecidos cerebrais isquêmicos podem ser salvos se ocorrer uma reperfusão antes dos danos se tornarem irreversíveis. Inicialmente após uma oclusão arterial, a área central mal perfundida é rodeada por uma área de disfunção causada por distúrbios metabólicos e iônicos com prevenção da integridade estrutural (penumbra isquêmica) (JORDAN et al., 2007).

A penumbra isquêmica tem sido documentada em animais de laboratório como o tecido do cérebro ainda com potencialidade de recuperação, assim, os esforços da terapia do AVE agudo estão voltados para essa região, com base na reperfusão, que tem como objetivo restaurar o fluxo sanguíneo cerebral (JORDAN et al., 2007).

A evolução do AVE é bem variada e pode ser influenciada por diversos fatores como idade, sexo, etnia. Pode ser influenciada por comorbidades e medicações, responsáveis por cerca de 80% de aproximadamente 70.000 eventos vasculares nos Estados Unidos a cada ano. Provavelmente, pela enorme variedade, mesmo com a existência de anos de pesquisas intensas, o tratamento para essa doença continua sendo um dos mais modificados na medicina (JORDAN et al., 2007).

Acredita-se que no AVE, a possibilidade do emprego de agentes com propriedade neuroprotetora envolveria a inibição da cascata de eventos moleculares patológicos que ocorrem na isquemia e que conduzem ao influxo de cálcio e a ativação de reações de radicais livres (JORDAN et al., 2007).

3.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL E DOENÇAS VASCULARES

A hipertensão arterial sistêmica pode ser definida como uma doença crônica, multifatorial, caracterizada por pressão arterial elevada e que afeta tanto a função quanto a estrutura dos vasos sanguíneos, principalmente pequenas artérias e

arteríolas. Essa patologia é uma das mais importantes causas de morbi-mortalidade universal, e identificada como um dos mais prevalentes fatores de risco para o desenvolvimento de doença coronariana, acidente vascular cerebral, doença vascular periférica, insuficiência renal e insuficiência cardíaca congestiva (ANDRADE et al., 2002).

A pressão arterial elevada é o principal fator de risco para todos os subtipos de acidente vascular encefálico (HAAPANIEMI; HILLBOM; JUVELA, 1997). Corroborando com esse fato, Leppälä e colaboradores (1999), estudaram os diferentes fatores de risco para os diferentes subtipos de acidente vascular encefálico. Verificaram 28519 indivíduos do sexo masculino e fumantes, com idade entre 50 e 69 anos. Durante os 8 anos de estudo, um total de 1057 homens sofreram algum subtipo de acidente vascular encefálico. Dentre esse número, 85 sofreram hemorragia subaracnóidea, 112 sofreram hemorragia intracerebral, 807 sofreram infarto cerebral e 53 sofreram um acidente vascular encefálico inespecífico. Os autores chegaram ao resultado que valores de pressão arterial sistólica maior ou igual a 160 mmHg, aumenta o risco de desenvolver todos os subtipos de acidente vascular encefálico.

A hipertensão arterial é especialmente prejudicial a indivíduos jovens, fumantes e pacientes com uso descontínuo de medicamentos anti-hipertensivos (THRIFT et al., 1998).

Os efeitos da hipertensão na estrutura dos vasos ocorrem tanto nas artérias maiores, onde há remodelamento da parede do vaso com o aumento de luz, que ocasiona aumento da força de fricção entre o sangue e a parede do vaso predispondo à aterosclerose, como nas artérias de pequeno calibre, onde ocorre realinhamento das células musculares e redução da luz sem alteração da massa dessas células. Assim, ocorre uma reestruturação da musculatura lisa ao redor de luz reduzida, levando ao aumento da resistência vascular sistêmica (FUSTER et al., 1996).

O sistema renina angiotensina (SRA), que promove uma cascata regulatória que atua como fator essencial no controle da pressão arterial, balanço hidroeletrólítico, tem um papel importante, uma vez que a estimulação inapropriada deste sistema tem sido associada à hipertensão. A angiotensina clivada pela renina a partir do angiotensinogênio é convertida a angiotensina II através da enzima conversora de angiotensina (ECA), que é primariamente encontrada nas células

endoteliais. A angiotensina II constitui o principal ativador do SRA e é responsável por uma série de ações fisiológicas, as quais influenciam o balanço hidroeletrólítico e a pressão arterial (LI et al., 2004).

Como um contribuinte principal da patogenia da hipertensão arterial, o SRA tem sido um alvo importante das intervenções terapêuticas que visam a hipertensão. Por outro lado também, tem-se encontrado na literatura demonstrações que determinados fatores da dieta poderiam modular a transcrição da renina e, portanto, reduzir a conseqüência maléfica deste sistema quando exacerbado (LI et al., 2004).

Apesar dos benefícios da terapia com drogas antihipertensivas, alguns agentes antihipertensivos são ainda onerosos e podem produzir efeitos colaterais indesejáveis (RICHTER et al., 2001).

3.3 DISLIPIDEMIA E DOENÇAS VASCULARES

As dislipidemias representam aumento ou diminuição das lipoproteínas plasmáticas, envolvidas direta e indiretamente, por vários mecanismos, no processo aterotrombótico. As lipoproteínas de menor densidade remanescente dos quilimícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL), são comprovadamente aterogênicas e trombogênicas, enquanto as de alta densidade (HDL) são antiaterogênica e antitrombogênica. Na prática, entretanto, as alterações dos níveis séricos das lipoproteínas são reconhecidas pelas determinações do colesterol ligado às lipoproteínas de baixa densidade (LDL), dos triglicerídeos ou de ambos, bem como de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL) (BERTOLAMI; BERTOLAMI, 2006).

A hipercolesterolemia na vasta maioria dos pacientes é de origem secundária, provocada por agentes tais como: obesidade, estilos de vida (dieta, sedentarismo, fumo e alcoolismo), desordens endócrinas (diabetes mellitus e hipotireoidismo), e desordens do fígado e dos rins. Também pode ter origem no uso de agentes farmacológicos, tais como: os diuréticos, os β -bloqueadores, os glucocorticóides, os derivados do ácido retinóico e os interferons α , β e γ . Também há possibilidade da hipercolesterolemia ser de origem genética (GARG; VINAYA, 2007).

Níveis plasmáticos elevados de lipoproteína de baixa densidade (LDL) são considerados um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A hipótese para esta injúria propõe que o primeiro passo na aterogênese seja a disfunção endotelial induzida por fatores de risco, em especial, pela exposição do endotélio vascular à LDL oxidada (LDL-ox) (XAVIER et al., 2004).

Estudos revelam que as preparações de LDL humana isolada exercem efeitos tóxicos sobre células em cultura. As LDL nativas (LDL_n) sofrem alterações químicas relacionadas com a peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, constituintes da lipoproteína, produzindo um grande aumento na sua susceptibilidade à fagocitose e à degradação por macrófagos (XAVIER et al., 2004).

Em estudos *in vivo*, os mecanismos moleculares que iniciam a oxidação da LDL ainda são desconhecidos. Porém, *in vitro* foi demonstrado que os principais tipos de células da parede vascular, as células endoteliais, as células musculares lisas e os macrófagos são capazes de oxidar a LDL nativa. A LDL oxidada inibe a migração das células endoteliais, mecanismo essencial nos processos de restabelecimento da integridade vascular após dano na angiogênese, de forma proporcional à concentração e ao grau de oxidação da LDL, mediado pela formação dos hidroperóxidos lipídicos (XAVIER et al., 2004).

Níveis baixos da lipoproteína de alta densidade (HDL) também representam um fator de risco para as doenças cardiovasculares. Essa correlação pode ser atribuída à habilidade da HDL de retirar o excesso das células de colesterol das paredes vasculares e transportá-las para o fígado (transporte reverso de colesterol) (MIURA; SAKU, 2007).

A relação entre colesterol total e HDL colesterol com acidente vascular encefálico, ainda não está claro. Há evidências que a concentração sérica de colesterol total é inversamente associado com o risco de desenvolvimento de acidente vascular hemorrágico (KAGAN et al., 1985; ISO et al., 1989; YANO; REED; MACLEAN, 1989). Contrariando essas evidências, elevados níveis séricos de colesterol total parece elevar o risco para infarto cerebral (KAGAN et al., 1985; ISO et al., 1989; REED, 1989; LINDERSTROM; BOYSEN; NYBOE, 1994).

Estudos sobre HDL colesterol e risco para acidente vascular encefálico são escassos, mas há a possibilidade de que elevados níveis séricos de HDL colesterol poderiam proteger contra infarto cerebral (GORDON et al., 1981).

O estudo de Leppälä e colaboradores (1999), o qual associou a hipertensão arterial como fator de risco para todos os subtipos de acidente vascular encefálico, também estudou as dislipidemias como fator de risco para esses subtipos. Os autores concluíram que elevados níveis séricos de colesterol total parece diminuir o risco de hemorragia intracerebral, mas em contrapartida parece aumentar o risco para infarto cerebral. Em contraste com esse resultado, níveis baixos de HDL colesterol pode aumentar o risco de infarto cerebral, mas não parece aumentar o risco para hemorragia intracerebral.

Com relação a isso, vem sendo postulado que baixos níveis séricos de colesterol total causam enfraquecimento do endotélio de pequenas artérias intracerebrais, e que em conjunto com a hipertensão arterial, pode aumentar o risco do desenvolvimento de hemorragia. Porém, ainda deve haver algum mecanismo desconhecido, pois a hemorragia intracerebral e o infarto cerebral compartilham dos mesmos fatores de risco (BRONNER; KANTER; MANSON, 1995).

3.4 ESTRESSE OXIDATIVO

As espécies reativas de oxigênio (EROS), conhecidas como radicais livres, são componentes químicos que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados, que reagem com proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, oxidando-os. As fontes de radicais livres podem ser endógenas (metabolismo do oxigênio, fagocitose, apoptose ou coagulação) ou então exógenas (cigarros, drogas, dieta, pesticidas, ozônio, nitrogênio, dióxido sulfúrico, raio-X e luz ultravioleta). Os radicais livres em humanos podem incluir radicais hidroxil, ânions superóxidos, peróxidos de hidrogênio e a molécula simples do oxigênio (EMMERT; KIRCHNER, 1999).

A oxidação pode alterar a estrutura molecular e, posteriormente, a sua função. Essas alterações acontecem de modo eventual, provavelmente por comandos anatômicos e fisiológicos desordenados, como malignidade e doenças cardiovasculares. É estimado que o DNA humano receba a cada dia cerca de 10.000 impactos oxidativos, indicando que o estresse oxidativo é onipresente. Portanto, o mecanismo antioxidante do sistema de defesa dos seres humanos é excelente, envolvendo métodos de prevenção (executado por proteínas extracelulares), de reparo (através de enzimas, como a superóxido desmutase,

catalase e glutathione peroxidase) e de interceptação (agentes antioxidantes, como as vitaminas C e E e os carotenóides) (EMMERT; KIRCHNER, 1999).

As espécies reativas de oxigênio têm um importante papel no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, que incluem a hipertensão arterial, a arteriosclerose, o diabetes, a hipertrofia cardíaca, a insuficiência cardíaca, os danos de isquemia/reperfusão e o acidente vascular encefálico. Em larga escala, esse fato é uma consequência da produção excessiva de oxigênio, do decréscimo da produção de óxido nítrico e também do decréscimo da capacidade antioxidante (TOUYZ, 2003; VAZIRI; RODRIGUEZ-ITURBE, 2006; TAIN; BAYLIS, 2006).

A família das espécies reativas de oxigênio compreende em diversas moléculas com efeitos divergentes no funcionamento celular, como a regularização e a diferenciação do crescimento celular, a modulação e a discriminação da produção de matrix extracelular, a inativação do óxido nítrico e do incentivo a genes inflamatórios e kinases (TOUYZ, 2005; HARRISON et al., 2006). Diversas dessas ações são associadas com modificações patológicas observadas em doenças vasculares (PARAVICINI; TOUYZ, 2008).

O oxigênio é uma molécula abundante no sistema biológico. Apesar de ser um radical, é moderadamente reativo, porque os dois elétrons desemparelhados são situados em diferentes órbitas moleculares e demonstram rotação paralela. Desse modo, o oxigênio sofre redução, tornando-se univalente e formando superóxido (O_2^-) por meio de enzimas como a adenosina nicotinamida dinucleotídeo fosfato (NADH/NADPH) oxidase e a xantina oxidase (XO). Sem a ação de enzimas, o oxigênio também pode se tornar superóxido por meio de reações redox de componentes ativos, tais como a semiubiquinona da cadeia mitocondrial de transporte de elétrons. Por meio da ação da superóxido dismutase (SOD), o ânio superóxido é dismutado para formar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (DRÖGE, 2002).

Estudos recentes indicam que tanto níveis elevados quanto a atividade aumentada da NADPH oxidase vascular estão associados com a principal fonte geradora de superóxido. A ativação do sistema renina angiotensina vem sendo proposta como a principal causa da estimulação da ativação da NADPH oxidase e consequente produção de espécies reativas de oxigênio na hipertensão humana (HARRISON et al., 2003; LASSEGUE; CLEMPUS, 2003).

Já a xantina oxidase, que está presente no endotélio vascular (LACY; GOUGH; SCHIMID-SCHONBEIN, 1998), mesmo estando associada no contexto das doenças cardíacas, pode estar também envolvida na disfunção endotelial na hipertensão. O estudo de Suzuki e colaboradores (1998) demonstraram que ratos espontaneamente hipertensos (SHR) apresentam elevados níveis de xantina oxidase, além da elevada produção de espécies reativas de oxigênio, e assim, sendo associado com o aumento do tônus arteriolar.

Similarmente, a disfunção endotelial em modelos animais com hipertensão espontânea vem sendo associada com o aumento da atividade da xantina oxidase (MERVAALA et al., 2001).

A disfunção endotelial é resultado de uma desregularização da homeostase vascular. Uma das propostas para o mecanismo da disfunção endotelial envolve a degradação acelerada do óxido nítrico (NO). A redução da concentração de EROS através de terapia antioxidante é um potente mecanismo para o tratamento da disfunção endotelial, através da manutenção da função endotelial e também prevenindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (DUVALL, 2005).

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, inorgânico, incolor, que possui sete elétrons do nitrogênio e oito do oxigênio, tendo um elétron desemparelhado. Até meados da década de 1980, o NO era considerado apenas membro de uma família de poluentes ambientais indesejáveis e carcinógenos potenciais. Atualmente, o NO constitui um dos mais importantes mediadores de processos intra e extracelulares. Este radical é produzido a partir da L-arginina, por uma reação mediada pela enzima NO-sintase constitutiva (c-NOS) e induzível (i-NOS). O NO apresenta um papel dúbio, às vezes benéfico, outras vezes prejudicial ao organismo. Está envolvido no relaxamento vascular e tem um papel de grande importância na proteção do vaso sanguíneo. Constitui um importante mediador citotóxico de células imunes efectoras ativadas, capaz de destruir patógenos e células tumorais. Possui, ainda, um papel como mensageiro/modulador em diversos processos biológicos essenciais. No entanto o NO é potencialmente tóxico. A toxicidade se faz presente particularmente em situações de estresse oxidativo, geração de intermediários do oxigênio e deficiência do sistema antioxidante (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

O NO produzido pela NO-sintase endotelial (e-NOS) induz a produção da enzima superóxido dismutase (SOD) na camada muscular do vaso e extracelular,

diminuindo o O_2^- disponível e, conseqüentemente, a produção de peroxinitrito ($ONOO^-$). O NO também induz a síntese de ferritina, que se liga a íons ferro livres e previne a geração de O_2^- . Por outro lado, na presença da placa aterosclerótica, os macrófagos ativados produzem O_2^- , expressam i-NOS e produzem NO. Desta forma, são produzidos $ONOO^-$ e o radical hidroxil (OH^-), comprometendo, ainda mais, a integridade tissular, favorecendo a ativação da coagulação e contribuindo para a obstrução da luz vascular (WOLIN, 2000).

Portanto, o NO é um importante componente para o controle da homeostase vascular, pois controla o tonus vascular, o fenótipo das células musculares lisas e a adesão e agregação das plaquetas e dos leucócitos (KEANEY; SIMON; FREEDMAN, 1999).

No sistema biológico, o superóxido apresenta uma vida biológica curta devido a sua rápida redução a peróxido de hidrogênio (JOHNSON; GIULIVI, 2005). A carga do ânion superóxido o faz incapaz de atravessar as membranas celulares, exceto pelos canais de íons. Em contrapartida, o peróxido de hidrogênio, por ter uma vida biológica mais longa que a do superóxido, sendo assim mais relativamente estável, é capaz de atravessar as membranas celulares com mais facilidade. A principal fonte de peróxido de hidrogênio no tecido vascular é pela dismutação do superóxido. Essa reação pode ser espontânea ou pode ser catalizada pela ação da superóxido dismutase (SOD), que se apresenta em três diferentes isoformas: SOD cobre/zinco, SOD mitocondrial e SOD extracelular. A principal isoforma vascular é a SOD extracelular (MENDEZ; NICHOLSON; TAYLOR, 2005).

As distintas propriedades entre o superóxido e o peróxido de hidrogênio e seus diferentes locais de distribuição, significa que diferentes espécies reativas de oxigênio podem ativar diferentes vias patológicas, que conseqüentemente, conduzem a divergentes respostas funcionais. Por exemplo, o aumento dos níveis de superóxido inativa o vasodilatador óxido nítrico, o que leva a uma disfunção endotelial, caracterizando diversas doenças vasculares (CAI; HARRISON, 2000; TABET et al., 2004). Por outro lado, o peróxido de hidrogênio atua como um vaso dilatador em alguns leitos vasculares, incluindo as artérias cerebrais, coronárias e mesentéricas (MATOBA et al., 2000; LIU et al., 2003; PARAVICINI et al., 2004).

Normalmente, há um perfeito balanço entre os oxidantes e os antioxidantes, mas toxinas externas, mutações incorretas do DNA e oxidação dos lipídios das membranas podem eventualmente afetar esse balanço, promovendo assim, as

doenças. De todos os componentes estudados na literatura científica, a vitamina E vem se mostrando como um dos mais benéficos agentes antioxidantes (EMMERT; KIRCHNER, 1999).

Na hipertensão arterial vem sendo sugerido a existência de uma forte associação com o aumento do estresse oxidativo (MADAMANCHI; VENDROV, RUNGE, 2005). A base molecular da hipertensão arterial é bastante complexa, na qual mais de 50 genes vem sendo implicado na regulação da pressão arterial (GARBERS; DUBOIS, 1999). No entanto, no passado recente, o papel do receptor AT1 na regulação da hipertensão vem sendo motivo de intensas investigações tanto *in vitro* quanto em modelos animais. A angiotensina II modula a hipertensão através dos efeitos sobre o sistema renina angiotensina e a estimulação dos receptores na parede dos vasos ativa a NADH/NADPH oxidase nas células vasculares. Assim, o estresse oxidativo resultante é considerado um mecanismo unificador da hipertensão e da aterosclerose (ZALBA et al., 2001; NICKENIG; HARRISON, 2002).

Adicionalmente, o tratamento de pacientes com bloqueadores do receptor AT1, não somente reduziu a pressão arterial e os níveis de malondialdeído (KOH et al., 2003), como também permitiu a reversão da resistência nas paredes dos vasos induzida pela hipertensão arterial (SCHIFFRIN et al., 2000). Esses dois estudos em conjunto, reforçam a sugestão de que o estresse oxidativo é um modulador da hipertensão, doença considerada como o principal fator de risco para doenças vasculares.

Estudos vêm relatando a implicação do estresse oxidativo em danos cerebrais após eventos de isquemia/reperfusão. A produção de espécies reativas de oxigênio durante a isquemia cerebral induz a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos no DNA (CHAN, 2001).

Em roedores, a manipulação de genes responsáveis pela produção de enzimas antioxidantes, fornece com clareza a evidência da associação do estresse oxidativo na injúria cerebral. Em camundongos com bloqueio da dismutase superóxido (SOD), observou-se um exarcebado aumento da área infartada, uma desregularização dos marcadores de estresse oxidativo, assim como um aumento da liberação mitocondrial de citocromo c e fragmentação de DNA após a indução da isquemia cerebral (MURAKAMI et al., 1998; FUJIMURA et al., 1999). Em adição a esse resultado, camundongos com uma elevada expressão da dismutase superóxido, apresentaram uma proteção neuronal (KELLER et al., 1998).

Em pacientes que sofreram um acidente vascular encefálico, foi observado um aumento significativo nos níveis de homocisteína plasmática, na peroxidação lipídica e nos níveis de NO, assim como um decréscimo significativo na quantidade de ácido ascórbico, quando comparados com indivíduos saudáveis (controle) (EL KOSSI; ZAKHARY, 2000). Portanto, esses estudos oferecem evidências que o estresse oxidativo tem um distinto papel na patogênese da isquemia cerebral.

3.5 VITAMINA E

A vitamina E foi descoberta por Evans e Bishop (1922) como sendo um micronutriente essencial para a reprodução em ratos, na qual atua na prevenção da perda de espermatozóides e também na reabsorção fetal. Na natureza, a vitamina E se apresenta sob oito formas diferentes, sendo quatro tocoferóis (α , β , δ , γ) e quatro tocotrienóis (α , β , δ , γ). A estrutura molecular dos tocotrienóis é bastante semelhante a dos tocoferóis, exceto que contém três duplas ligações nas posições 3, 7 e 11 (CHOW, 2004).

Das formas de vitamina E, o gama-tocoferol é o mais predominante na dieta humana, porém o alfa-tocoferol é o mais ativo biologicamente, sendo encontrado nas principais formas de suplemento de vitamina E (DUTTA; DUTTA, 2003). Porém, existem estudos em que o gama-tocoferol comparado ao alfa-tocoferol apresentou um resultado melhor, diminuindo processos inflamatórios em ratos (DEVARAJ; TRABER, 2003; JIANG; AMES, 2003) mas os resultados ainda não são conclusivos.

A vitamina E tem sido amplamente estudada por ser um potente antioxidante. Assim, ela atua nas células protegendo os ácidos graxos insaturados, proteínas e DNA da oxidação (IKEDA; NEGISHI; YAMORI, 2003). Essa vitamina também está associada à diminuição da pressão arterial sanguínea, adesão e agregação plaquetária e redução dos marcadores inflamatórios e marcadores da peroxidação lipídica (KEANEY; SIMON; FREEDMAN, 1999; PRATICO, 2005), além da modulação do perfil lipídico (HODIS et al., 2002) e inibição da atividade da proteína quinase C (OZER et al., 1993).

Porém, como qualquer componente redox-ativo, a vitamina E pode exercer além da função antioxidante, uma função pró-oxidante, dependendo da reação presente (BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999). Esta função pode ser

desencadeada através da co-regulação do metabolismo ou da absorção de antioxidantes, onde a carência de outros antioxidantes pode acarretar na ação pró-oxidante da vitamina E (HODIS et al., 2002).

Adicionalmente, quando um radical livre inicia uma reação com ácidos graxos poliinsaturados, presentes na membrana fosfolipídica, estes lipídios perdem um hidrogênio pela reação com o radical, sendo convertidos em radicais livres de ácidos graxos poliinsaturados. Estes radicais podem iniciar uma reação com outros ácidos graxos, transformando-os em radicais peróxil. A repetição deste processo constitui uma reação em cadeia de radicais livres. A reação desta estrutura com o tocoferol resulta na produção de ácidos graxos poliinsaturados hidróxido peróxido (AGPI-OOH) e radical tocoferol. Estes dois compostos formados podem reagir entre si e formar novamente um radical livre de ácido graxo poliinsaturado. Esta reação constitui o mecanismo pró-oxidante das ações do alfa-tocoferol (HERRERA; BARBAS, 2001).

Entretanto, esta ação pró-oxidante é suprimida quando o radical de tocoferol é regenerado através de outros antioxidantes, como a vitamina C e a coenzima Q10 (HERRERA; BARBAS, 2001).

A absorção da vitamina E necessita de ácidos biliares (secretados pelo fígado), ácidos graxos e monoglicérides (liberados da gordura alimentar por enzimas pancreáticas) para a formação da micela. Após a captação para o interior dos enterócitos do intestino, todas as formas dietéticas da vitamina E são incorporadas em quilomícrons. Estas lipoproteínas ricas em triglicérides são secretadas na circulação, onde ocorre a lipólise pela lipase de lipoproteínas (LPL) ligadas à camada endotelial das paredes dos capilares. Os remanescentes dos quilomícrons resultantes são captados principalmente pelo fígado. Durante a lipólise, várias formas de vitamina E podem ser transferidas aos tecidos ou a lipoproteínas de alta densidade (HDL). A vitamina E pode ser trocada entre a HDL e outras lipoproteínas circulantes, que podem, também, liberar a vitamina E para os tecidos periféricos (HERRERA; BARBAS, 2001).

Todas as formas de vitamina E sofrem o mesmo processo de absorção. Porém, após a passagem pelo fígado, há uma preferência do plasma pelo alfa-tocoferol. As demais formas são secretadas pela bile ou excretadas pelas fezes (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005). A razão para tal preferência é explicada pela existência no fígado da proteína de transferência de alfa-tocoferol (α -TTP), que

difere entre as diferentes formas da vitamina E atuando somente sobre o alfa-tocoferol (RIGOTTI, 2007).

Assim, no seu catabolismo, a vitamina E é primariamente oxidada em tocoferil quinona biologicamente inativa, que pode ser reduzida em tocoferil hidroquinona (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005).

No que se refere à toxicidade, a vitamina E é uma da menos tóxica. Após anos de pesquisas com altas doses desta vitamina, foi provado que é uma vitamina não mutagênica e não teratogênica (EMMERT; KIRCHNER, 1999). Contudo, em altas doses, pode haver uma interação desta vitamina com o retinal (CHING et al., 2002) e promove a ação pró-oxidante da mesma (HODIS et al., 2002).

A vitamina E é encontrada no germe de trigo e em seu óleo, assim como nos óleos de soja, arroz, algodão, milho, girassol, gema de ovo, vegetais folhosos e legumes. Os alimentos de origem animal são relativamente pobres em vitamina, com exceção da gema de ovo, fígado e tecido adiposo (FRANCO, 2007).

O possível potencial do tratamento antioxidantes proveniente da vitamina E associado ao estresse oxidativo é baseado em investigações experimentais, achados observacionais, pequenos estudos clínicos e estudos epidemiológicos (CHEN et al., 2002). Portanto, os achados são inconsistentes e os estudos ainda são inconclusivos, principalmente quando se trata de estudos em seres humanos.

Na revisão sistemática de Jialal e Devaraj (2003), que utilizou 12 trabalhos de larga escala, 5 estudos demonstraram benefícios com o tratamento de antioxidantes e 7 não relaram sucesso associado ao uso de antioxidantes. O Cambridge Heart Antioxidant Study apresentou uma significativa redução de mortes cardiovasculares e de infarto do miocárdio, com a suplementação de alfa-tocoferol nas doses de 400 ou 800 UI por dia. O Secondary Prevention With Antioxidant of Cardiovascular Disease In End Stage Renal Disease, verificou que a administração de 800 UI por dia de alfa-tocoferol em pacientes em hemodiálise e com doença cardiovascular pré existente diminuiu o número de infartos do miocárdio (fatal e não fatal), de AVE isquêmico, de doença vascular periférica e de angina instável. O Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) Study, demonstrou que após 6 anos de suplementação com vitamina E e com vitamina C, houve uma redução na progressão de aterosclerose de carótida.

Os estudos Heart Outcomes Prevention Evolution e Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio não demonstraram efeitos positivos

com a suplementação de vitaminas antioxidantes, incluindo a vitamina E. No entanto, mais de 75% dos pacientes incluídos nesses estudos eram tratados com aspirina ou algum outro agente antiplaquetário, e muitos também recebiam β -bloqueadores, agentes hipocolesterolêmicos e bloqueadores do canal de cálcio. Assim, os efeitos esperados proveniente dos antioxidantes podem ter sido anulados (JIALAL; DEVARAJ, 2003).

Diferentemente dos estudos de larga escala, os estudos clínicos menores vêm mostrando respostas mais positivas em pacientes hipertensos tratados com antioxidantes, sendo em terapias em conjunto (zinco, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, beta caroteno e outros) como também em terapias isoladas (vitamina C ou vitamina E). Estudos com humanos utilizando doses de 400 a 1000 UI por dia de vitamina E demonstraram efeitos benéficos na sensibilidade a insulina, na diminuição dos níveis séricos de glicose, no aumento intracelular de magnésio e na redução da resistência vascular (REDON et al., 2003; HOUSTON, 2005).

Dados de 1946 do estudo British Birth Cohort reportaram que a baixa ingestão de vitamina E durante a infância e na fase adulta foi um bom preditor da hipertensão arterial aos 43 anos de idade (MISHRA et al., 2003). Adicionalmente, Yachum, Folsom e Kushi (2000), observaram uma associação inversa entre a ingestão de vitamina E e o AVE fatal em mulheres pós menopausa.

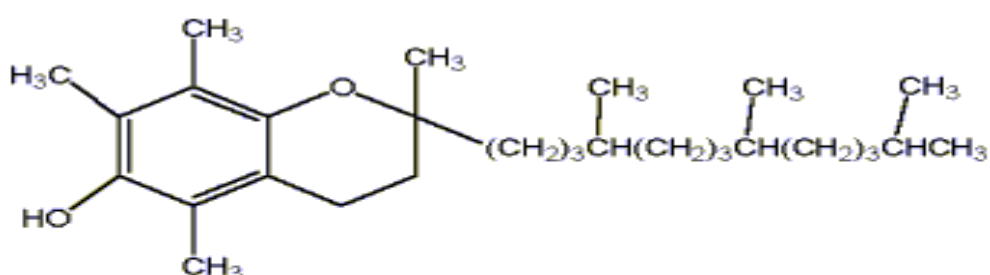
A aparente incapacidade de prevenção de doenças, a partir de terapias com antioxidantes, pode ser atribuída a importantes razões. Uma delas é que por mais que a suplementação de antioxidantes possa ser benéfica por meio de uma metodologia aprovada contra o estresse oxidativo, não se sabe ainda deduzir quem são os reais indivíduos que terão respostas para esse tipo de tratamento (JIALAL; DEVARAJ, 2003). É possível que o tratamento com vitamina E tenha um valor terapêutico apenas para os indivíduos com elevados níveis de estresse oxidativo.

Outra razão para a ineficácia dos antioxidantes pode ser relatada pela dose ótima e o tipo de antioxidante usado. Para essa questão, foram sugeridas como eficazes a dose de 800 UI por dia de alfa tocoferol (JIALAL; DEVARAJ, 2003). Além disso, a chave é a formulação do antioxidante utilizado. Cinco dos sete trabalhos que reportaram ineficácia da vitamina E, no estudo de revisão de Jialal e Devaraj (2003), utilizaram o all-rac-tocoferol (forma racêmica) e quatro trabalhos descreveram sucesso com o uso de RRR-tocoferol (forma natural).

Outra possível razão para um provável insucesso dos antioxidante pode ser devido a complexidade das reações redox “in vivo”, por exemplo, as vitaminas C e E podem apresentar propriedades pró oxidantes (HALLIWELL, 2000). É capaz também que a administração oral de antioxidantes possa ser inacessível para as fontes de espécies reativas de oxigênio, particularmente se estes forem gerados em compartimentos intracelulares ou em organelas (CAI; GRIENGLING; HARRISON, 2003).

Além disso, as vitaminas antioxidantes podem não atuar sobre o peróxido de hidrogênio, atuando somente sobre o superóxido, o que pode ser crucial na prevenção das doenças vasculares (PARAVICINI; TOUYZ, 2008).

Portanto, nos estudos em humanos que obtiveram resultados negativos com o uso de agentes antioxidantes, nunca foi provado de fato que esses indivíduos apresentavam um aumento do estresse oxidativo. Não há nenhum estudo em larga escala que recrutou os indivíduos baseado em elevada formação de espécies reativas de oxigênio (PARAVICINI; TOUYZ, 2008).



Alfa tocoferol

Figura 1: Representação química do alfa-tocoferol

3.6 MODELO SHRSP

Durante décadas, animais têm sido usados para entender doenças humanas, tanto de uma perspectiva fisiopatológica quanto da administração de drogas. O rato é um animal utilizado com frequência em pesquisas sobre o sistema cardiovascular (BATRA; RAKUSAN, 1992; CLEUTJENS et al., 1995). Isso se deve ao fato de existir uma semelhança morfológica e funcional do sistema cardiovascular

do rato com o de outros animais, inclusive com o homem (CAMPBELL; RAKUSAN; GERDES, 1989).

O SHR e SHRSP são os modelos animais mais largamente empregados nos estudos de hipertensão, por causa de alguns processos patofisiológicos serem similares aqueles da hipertensão arterial. A diferença de características genéticas e metabólicas entre estes animais hipertensos e seus controles normotensos Wistar Kyoto (WKY) é de grande interesse porque permite estabelecer um discernimento entre a regulação da pressão sanguínea na hipertensão essencial humana (AKIRA; IMACHI; HASHIMOTO, 2005).

O rato SHRSP é um modelo animal com disfunção endotelial, espontaneamente hipertenso e com propensão ao acidente vascular encefálico (MICHIHARA et al., 2002; McBRIDE et al., 2005). Esta linhagem de rato foi estabelecida em 1974 por Okamoto e Yamori e Nagaoka, através do cruzamento não seletivo de ratos SHR. Nesses animais, a geração de ânions superóxidos e radicais hidroxil, estão aumentadas e conseqüentemente o estresse oxidativo é elevado (KISHI et al., 2004). Além disso, a manutenção da hipertensão nestes ratos está associada aos radicais livres (McINTYRE et al., 1997).

O SHRSP serve como um modelo de hipertensão maligna. Entretanto os fatores patofisiológicos que causam essa hipertensão maligna nos SHRSPs permanecem não estabelecidos (TAKEDA, 2004).

O modelo tem sido usado para o estudo de alteração do tecido cerebral e vasculatura tanto estruturalmente como funcionalmente e a relação entre estudos histopatológicos e comportamentais ou anormalidades metabólicas (ex: aumento da agressividade, hipocinesia ou hipercinesia, prejuízo da barreira hematoencefálica, proteinúria, repentina perda de peso) tem sido extensivamente investigado (GUERRINI; SIRONI, 2002).

4 METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS E DIETA

Foram selecionados 12 ratos espontaneamente hipertensos com propensão ao acidente vascular encefálico (SHRSP), do sexo masculino, jovens (8 semanas). Eles foram mantidos em gaiolas metabólicas no biotério da Escola de Nutrição, com condições de luminosidade (ciclo de 12 horas manhã/noite de iluminação artificial), de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e de umidade ($60 \pm 10\%$) controladas, recebendo ração Nuvilab da Nuvital Co e água *ad libitum*.

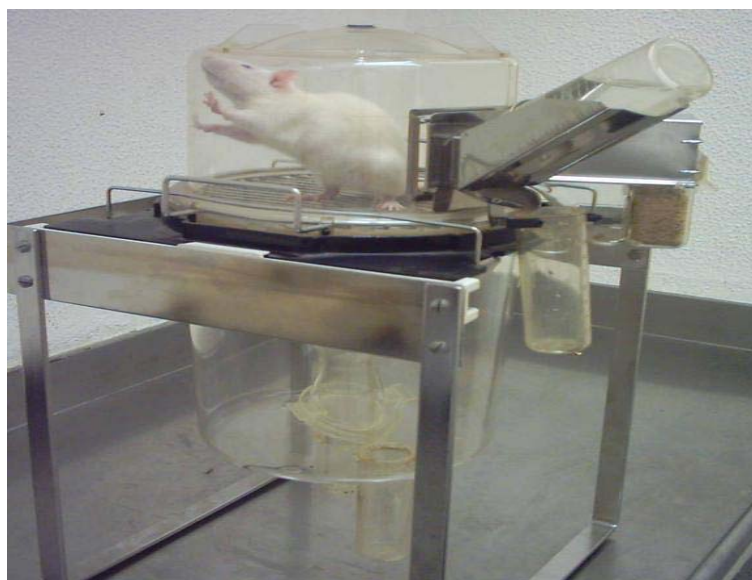


Figura 2: Gaiola metabólica

Primeiramente, após o período basal de 10 dias, os ratos foram divididos em dois grupos com n igual a 6 cada (controle e tratado). Os animais tratados foram suplementados, durante um período de 4 semanas, por gavagem orogástrica usando sonda PE 190 com dose de 120 UI de acetato de alfa-tocorefol (T - 3376 Sigma®, St Louis, MO) diluído em 0,1 ml de óleo de coco. O controle recebeu somente o veículo (0,1 ml de óleo de coco). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-Degenerativas (LINDCD) e seguiram as normas adotadas pelo guia convencional para experimentos com animais (NIH Publication N°. 85-23, revisada 1996).



Figura 3: Gavagem orogástrica

4.2 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS GERAIS

Diariamente, os animais eram submetidos à avaliação de massa corporal e consumo de ração em balança Filizolla, diurese e ingestão hídrica em proveta milimetrada. Essa avaliação incluiu também a realização de exame físico para a possível detecção de efeitos tóxicos ou sinais de carência nutricional ocasionados por interação de nutrientes. Assim foram observados o aspecto e coloração das mucosas e pelagem, a postura do animal, o comportamento seguindo protocolo descrito por Vianna (2009).

4.3 DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A medição da pressão arterial sistólica foi realizada por pletismografia duas vezes na semana em dias alternados seguindo metodologia de Magaldi modificada por Vianna, Paiva e Paiva (1992), que consiste em aquecer o animal numa caixa com temperatura controlada de aproximadamente 37°C durante 10 minutos para vasodilatar a cauda e assim, facilitar a aferição da pressão arterial sistólica. O animal então, é colocado num cilindro de contenção e sua cauda introduzida no pletismógrafo com água aquecida à 35°C. Em seguida, comprimi-se a cauda dentro do aparelho com a finalidade de expulsar o máximo de sangue. Insufla-se o manguito a 220mmHg (SHRSP), aguarda-se a estabilização do líquido e afrouxa-se lentamente o manguito para permitir a passagem de sangue pela artéria previamente comprimida. Quando o sangue passa para a cauda, o volume do líquido

contido na coluna indicadora (repleta de líquido) se alterada, e neste momento, executa-se a leitura da pressão arterial sistólica do animal.



Figura 4: Caixa de aquecimento



Figura 5: Plestimógrafo

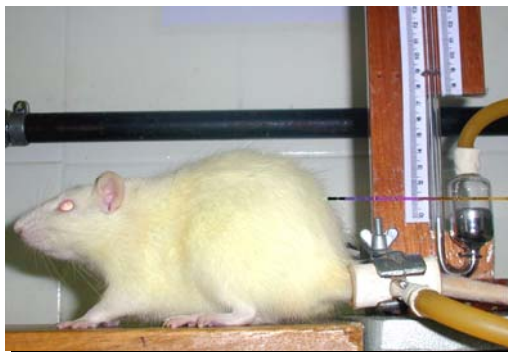


Figura 6: Plestimógrafo

4.4 TESTES NEUROLÓGICOS

Todos os testes neurológicos foram realizados desde o período basal até o final do experimento seguindo metodologia empregada pelo Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-Degenerativas (LINDCD), que descreveremos abaixo. Os animais foram submetidos à avaliação neurológica através de testes de cognição, de força, de equilíbrio e termo-sensório-motores. Igualmente foi monitorada a ocorrência de ataques isquêmicos transitórios (AIT).

4.4.1 Teste cognitivo (teste de memória - labirinto)

O teste do cognitivo foi aplicado com a finalidade de testar a habilidade do rato em percorrer o trajeto de um labirinto, o qual criava a necessidade de armazenamento de memória, através de um mapa cognitivo (FUJIMOTO et al., 2004). A análise do teste foi realizada por medição do tempo utilizado para completar todo o percurso (Figura 7).



Figura 7: Teste cognitivo

4.4.2 Plano Inclinado

Neste teste os animais eram colocados num plano reto na posição horizontal, com a cauda voltada para o lado oposto em que a tábua seria suspensa. Com isso, promovíamos o levantamento da tábua em posição vertical girando sobre seu próprio eixo visando ao final uma volta de 180°, testando a força e equilíbrio do

animal (Figura 8). A avaliação seguia os seguintes padrões: Grau 0: o rato não caía da rampa quando girada; Grau 1: o animal escorrega ou cai a 30°; Grau 2: o rato cai ou escorrega a 90°; Grau 3: o rato cai ou escorrega a 180° (ABOU-DONIA et al., 2002).



Figura 8: Plano Inclinado

4.4.3 Barra de equilíbrio (tempo de agarre das patas)

A barra de equilíbrio consiste numa estrutura de madeira com 5mm de diâmetro, cuja função era avaliar o tempo em que o animal conseguiria suportar seu próprio peso através da força da pata dianteira ao colocá-lo segurando na barra (Figura 9). O tempo em que os ratos levavam segurando a barra era cronometrado (ABOU-DONIA et al., 2002).



Figura 9: Barra de equilíbrio

4.4.4 Viga de equilíbrio

A função deste teste é avaliar globalmente a função vestibulomotora e cerebelar do equilíbrio. Desta forma, o animal era colocado em uma estreita viga de madeira com dimensões 1,5cm de largura e aproximadamente 1m de altura (Figura 10). De acordo com Fujimoto e colaboradores (2004), os animais com lesões cerebrais podem ser capazes de ficar na viga por mais de 60 segundos, mas podem assumir posturas que são diferentes de animais normais, como, abraçar a viga ou se equilibrar com as patas dependuradas para se sustentar (FUJIMOTO et al., 2004). Assim, foi estipulado o tempo de 60 segundos para que o animal permaneça na viga. Se os animais conseguissem a marca estipulada, era anotado 60 segundos, caso ele caísse antes do tempo delimitado o valor de tempo correspondente era anotado.



Figura 10: Viga de equilíbrio

4.4.5 Termo-sensório-motor

Este teste avalia a resposta sensório-motora do animal através da exposição da cauda do rato a uma superfície quente. Esta avaliação segue o princípio do *Hot Plate Analgesia Meter* (*San Diego Instruments*) e foi adaptado no Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-Degenerativas para ser utilizado diariamente sem representar danos físicos aos animais. Com isso, introduzíamos a cauda do animal em água à 80°C e cronometrávamos a resposta termo-sensório-motora (Figura 11).



Figura 11: Termo-sensório-motor

4.5 SACRIFÍCIO

Após o período do experimento, os ratos do grupo controle e do grupo tratado foram anestesiados com pentobarbital e sacrificados através de punção cardíaca. Posteriormente, o sangue foi coletado, colocado em tubos e centrifugados à 2000 x g por 10 minutos para a obtenção do soro. Esse procedimento também permitiu a remoção do fígado para a determinação de seu peso.

4.6 DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO

Os níveis de colesterol total, HDL colesterol e triglicerídeos foram mensurados empregando-se uma enzima. Os níveis de LDL colesterol foram calculados pela fórmula de Friedewald: $LDL = TC - HDL - (TG/5)$.

4.7 MARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO

A avaliação do estresse oxidativo foi realizada através da mensuração dos níveis de malondialdeído plasmático (MDA), um marcador de peroxidação lipídica. Para isso, utilizou-se ácido tiobarbitúrico e o equipamento Micronal B442, realizando a análise por colorimetria e calculando a concentração de MDA à absorção de 532 nm. Os valores foram apresentados por nmol/mL.

4.8 TOXICIDADE HEPÁTICA

Foi determinada avaliando a presença de hipertrofia do órgão sendo adotado o método de Scherle (1970), que em linhas gerais, consiste na aferição do deslocamento de líquido de um órgão submerso em solução salina fisiológica, suspenso por um fio em um recipiente, sem tocar nas paredes deste, apoiado sobre uma balança de precisão. Considerando-se que o volume = peso / gravidade específica (g), e que a gravidade da solução fisiológica é de 1,0048g, considera-se então que peso = volume.

4.9 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

A análise estatística foi realizada pelo software GraphPad Prism[®] 4.0 versão para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, CA). O tratamento estatístico utilizado foi média \pm desvio-padrão, e aplicados os métodos ANOVA Two-Way para comparação de mais de duas médias (acompanhamento da pressão arterial sistólica durante os períodos de tratamento entre os grupos controle e tratado), e teste t de Student para comparação entre tratado e controle nos demais parâmetros (peso, diurese, ingestão hídrica, ingestão de ração, toxicidade hepática, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicerídeos e malondialdeído plasmático), tendo considerado como estatisticamente significativo $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

O exame físico não revelou alterações e a avaliação dos parâmetros biológicos dos animais confirmou a ausência de toxicidade ou carência decorrente da suplementação. (Tabela 1).

Tabela 1: Média \pm desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do grupo tratado (n=6) e do grupo controle (n=6), ao final do experimento.

	Tratado	Controle
Peso (g)	200,51 \pm 16,88	197,57 \pm 18,10
Diurese (mL)	2,52 \pm 1,07	3,14 \pm 1,44
Água (mL)	27,54 \pm 2,16	28,38 \pm 1,03
Ração (g)	17,66 \pm 1,96	15,57 \pm 3,13

Os testes neurológicos também não revelaram diferenças entre os grupos tratado e não tratado. Entretanto, o tempo de resposta aos testes parece ter sido influenciado pela idade dos animais, pois foi observado um decréscimo no tempo de resposta à medida que as semanas avançaram (Tabela 2).

Tabela 2: Média \pm desvio padrão dos exames neurológicos de ratos SHRSP tratados (n=6) com alfa - tocoferol comparados aos ratos controle (n=6).

Período	Grupo	Memória	Plano Inclinado	Barra de Equilíbrio	Viga de Equilíbrio	Termo-sensório motor
Basal	Alfa-tocoferol	0'27"45	0,00	0'14"76	1'00"00	0'00"58
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	Controle	0'06"92	0,00	0'02"48	0'00"00	0'00"03
		0'14"35	0,00	0'14"35	1'00"00	0'00"63
1ª Semana	Alfa-tocoferol	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		0'04"84	0,00	0'04"84	0'00"00	0'00"08
	Controle	0'25"70	0,00	0'12"15	1'00"00	0'00"48
		0'06"16	0,00	0'01"93	0'00"00	0'00"11
2ª Semana	Alfa-tocoferol	0'18"78	0,00	0'18"78	1'00"00	0'00"54
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	Controle	0'03"93	0,00	0'03"93	0'00"00	0'00"03
		0'17"95	0,00	0'11"26	1'00"00	0'00"42
2ª Semana	Alfa-tocoferol	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		0'04"62	0,00	0'01"40	0'00"00	0'00"06
	Controle	0'11"24	0,00	0'11"24	1'00"00	0'00"47
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		0'02"96	0,00	0'02"95	0'00"00	0'00"03

Período	Grupo	Memória	Plano Inclinado	Barra de Equilíbrio	Viga de Equilíbrio	Termo-sensório motor
3ª Semana	Alfa-tocoferol	0'17"31	0,00	0'10"77	1'00"00	0'00"51
		±	±	±	±	±
	0'04"31	0,00	0'01"43	0'00"00	0'00"01	
	Controle	0'11"41	0,00	0'11"40	1'00"00	0'00"44
±		±	±	±	±	
4ª Semana	Alfa-tocoferol	0'02"71	0,00	0'02"02	0'00"00	0'00"13
		±	±	±	±	±
		0'15"76	0,00	0'10"53	1'00"00	0'00"44
		±	±	±	±	±
	Controle	0'04"48	0,00	0'01"05	0'00"00	0'00"07
		±	±	±	±	±
		0'11"41	0,00	0'09"20	1'00"00	0'00"56
		±	±	±	±	±
		0'02"71	0,00	0'02"28	0'00"00	0'00"03

Com relação à pressão arterial sistólica foi observado que durante as 4 semanas de experimento ocorreu um aumento significativo da mesma no grupo controle, enquanto que no grupo tratado com o alfa-tocoferol, ao longo do experimento foi observada uma redução significativa (Gráfico 1). Durante o período basal, o grupo controle apresentou uma pressão arterial sistólica de $222 \pm 0,47$ mmHg e na 4ª semana um valor de $226,22 \pm 0,47$ mmHg. Já no grupo tratado com o alfa-tocoferol, a pressão arterial sistólica durante o período basal foi de $221,04 \pm 2,04$ mmHg caindo na 4ª semana de tratamento para $213,03 \pm 0,05$ mmHg.

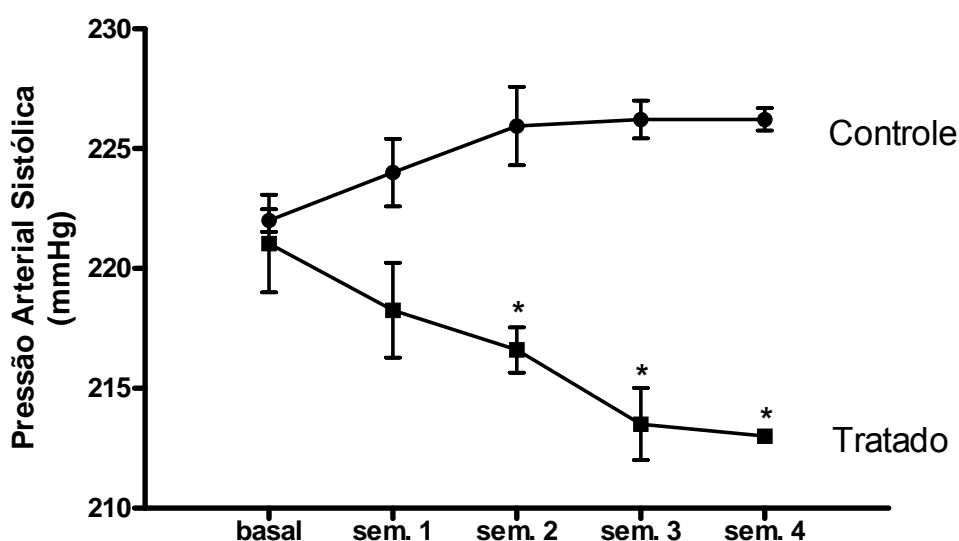


Gráfico 1: Média \pm desvio padrão da pressão arterial sistólica dos grupos controle (n=6) e tratado (n=6) ao longo das semanas de experimento (* $p < 0,05$)

Durante o experimento, também foi observada uma melhora significativa no perfil lipídico dos ratos tratados com o alfa-tocoferol quando comparados ao grupo controle. O colesterol total diminuiu de $74,5 \pm 1,29$ mg/dL para $60,5 \pm 4,80$ mg/dL (Gráfico 2), o LDL-colesterol diminuiu de $37,5 \pm 3,54$ mg/dL para $11,61 \pm 1,10$ mg/dL (Gráfico 3) e o HDL-colesterol aumentou de $27 \pm 3,07$ mg/dL para $40,25 \pm 4,92$ mg/dL (Gráfico 4). Somente nos triglicerídeos não houve uma diminuição significativa. A variação foi de $50 \pm 2,63$ mg/dL para $43,50 \pm 12,45$ mg/dL (Gráfico 5).

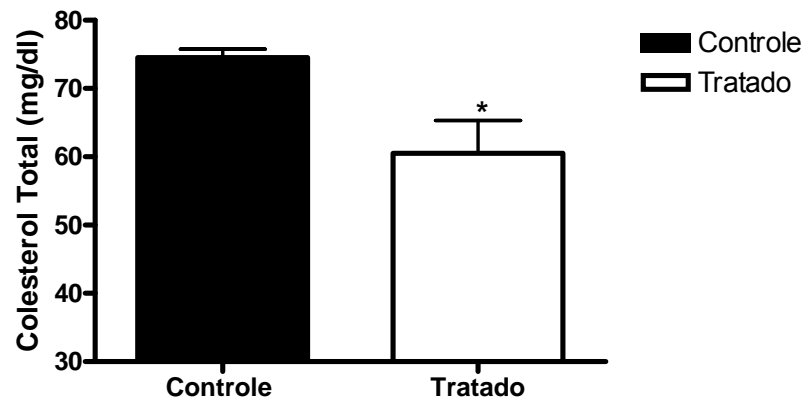


Gráfico 2: Colesterol total (média \pm desvio padrão) entre os grupos. * $p < 0,05$

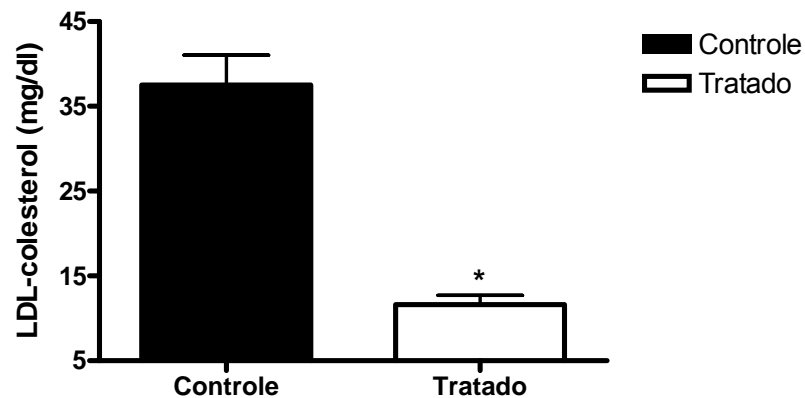


Gráfico 3: LDL-colesterol (média \pm desvio padrão) entre os grupos. * $p < 0,05$

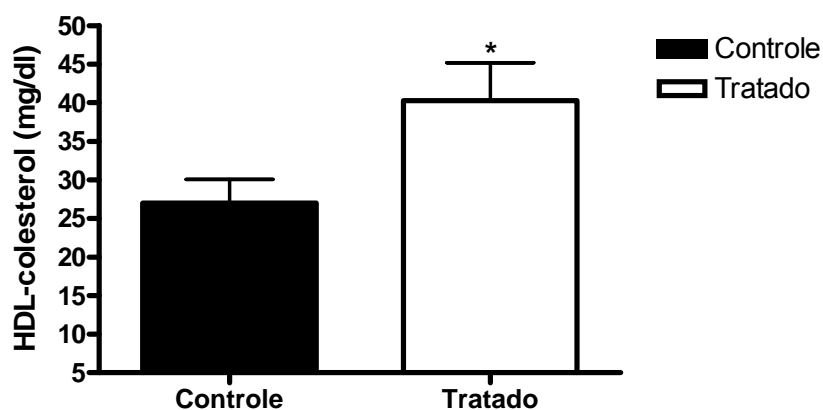


Gráfico 4: HDL-colesterol (média ± desvio padrão) entre os grupos. * p<0,05

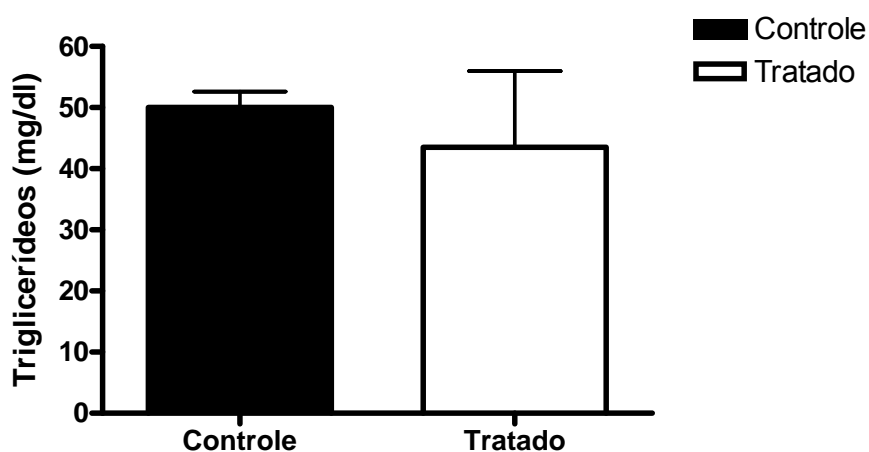


Gráfico 5: Média ± desvio padrão dos triglicerídeos plasmáticos

Em adição, o grupo tratado com alfa-tocoferol demonstrou uma redução significativa nos níveis de malondialdeído plasmático quando comparado com o grupo controle ($4,55 \pm 0,12$ nmol/dL vs. $2,73 \pm 0,21$ nmol/dL, $p < 0,05$), sugerindo uma atenuação no estresse oxidativos desses animais (Gráfico 6).

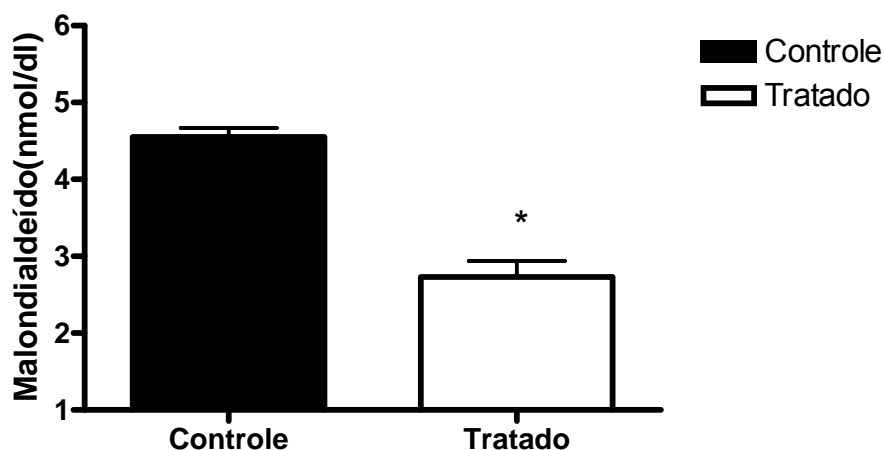


Gráfico 6: Níveis de malondialdeído plasmático (média \pm desvio padrão) entre os grupos.
* $p < 0,05$

Por fim, não houve alteração significativa do peso do fígado entre o grupo controle e o grupo tratado com alfa-tocoferol ($9,526 \pm 0,71g$ vs. $9,895 \pm 0,48g$, respectivamente), sugerindo que a vitamina administrada não apresentou efeitos hepatotóxicos (Gráfico 7).

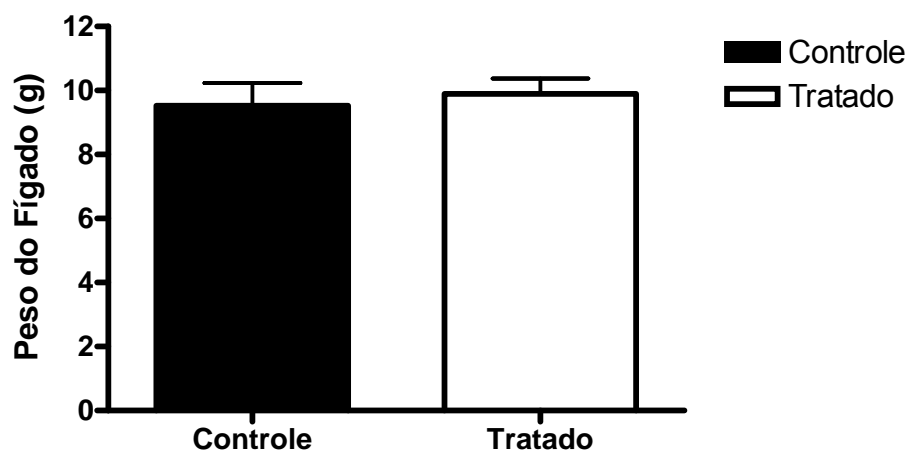


Gráfico 7: Peso do fígado entre os grupos (média \pm desvio padrão)

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou claramente que os ratos SHRSP são responsivos à suplementação de alfa-tocoferol e esse tratamento é capaz de modular os fatores de risco associados ao AVE.

Em trabalhos prévios, nosso grupo demonstrou também os efeitos positivos da suplementação do alfa-tocoferol em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e em ratos espontaneamente hipertensos diabéticos (SHR-Db) (COSTA et al., 2005; COSTA; VIANNA, 2005). Costa e colaboradores (2005) demonstraram que em ratos SHR ocorre um efeito hipotensor desta vitamina em torno de 15%, e, além disso, uma importante redução na viscosidade sanguínea (mais de 45%) propondo que este seria seu mecanismo de ação.

Na realidade, a ação hipotensora do alfa-tocoferol vem sendo atribuída em grande parte a sua propriedade antioxidante. Assim, Noguchi e colaboradores (2001), observaram efeito hipotensor acompanhado de menor excreção urinária de 8-hidroxi-2-deoxiguanosina em ratos SHRSP tratados com essa vitamina.

Outros autores observaram redução da atividade da NADPH oxidase e um aumento da atividade da dismutase superóxido (CHEN et al., 2002). No presente trabalho optamos pela avaliação do malondialdeído que é reconhecidamente um marcador de estresse oxidativo de uso disseminado (MICHEL et al., 2008).

A redução do estresse oxidativo *per si*, certamente explica a resposta hipotensora do alfa-tocoferol, pois nesse caso todos os mecanismos associados à injúria do endotélio e ao desequilíbrio entre a secreção de substâncias vasoconstritoras e vasorelaxantes é prevenido. Em 2006, Fiorelli, Oliveira e Vianna, em uma revisão sobre vitaminas antioxidantes, assinalaram que durante a injúria provocada por radicais livres, todo o mecanismo de funcionamento de troca iônica celular responsável pela homeostase das células vasculares encontra-se comprometido. Dessa forma, as proteínas âncoras de membrana, tais como, a sódio potássio ATPase (Na-KATPase), o canal de potássio, dentre outras, terão sua atividade inibida favorecendo os mecanismos vasoconstritores.

É importante também assinalar, que Vasdev e colaboradores (2002), em trabalhos prévios também observaram que a terapia com a vitamina E provocou uma significativa redução na pressão arterial, atenuando alterações vasculares renais em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), e segundo os autores, esse resultado

positivo foi devido a ação antioxidante desse nutriente pela diminuição de aldeídos além da restauração da função do óxido nítrico. Newaz e colaboradores (1999) e Vaziri e colaboradores (2000) também atribuíram a elevação da atividade da óxido nítrico sintase à ação hipotensora do alfa-tocoferol.

Concomitantemente, foi demonstrado nesse trabalho que os animais tratados tiveram significativa redução do colesterol-LDL e o aumento do colesterol-HDL o que também reforçaria a modulação dos seus níveis tensionais. Em trabalhos prévios, Costa e Vianna (2005), usando o modelo SHR induzido ao diabetes, também observaram uma redução significativa da pressão arterial sistólica nos ratos tratados com alfa-tocoferol que foi associada à correção do perfil lipídico destes animais.

Além disso, a literatura vem ao longo dos anos comprovando via estudos clínicos randomizados e/ou observacionais longitudinais a existência de uma relação inversa entre colesterol-HDL e pressão arterial (DOMINGUES et al., 1990; ZIDEK et al., 2009).

Embora não tenhamos investigado, creditamos a modulação do perfil lipídico pelo tocoferol à duas de suas ações já relatadas na literatura, a saber, sua influência na inibição da proteína de transferência de ester colesterolil (CETP), que é a responsável pelo aumento do LDL-colesterol e pela redução do HDL-colesterol (SHEN; NOVAK; ANGEL, 1996) e ao fato de que o tratamento com antioxidantes é capaz de também proteger a enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT), que tem capacidade de esterificar o colesterol livre em HDL-colesterol (McCALL et al., 1995).

Ainda que os achados aqui apresentados tenham sido encontrados em diferentes modelos animais (SCHWENKE; BEHR, 1998, FRENOUX et al., 2002), é importante destacar que o estudo de Hasty e colaboradores (2007), não revelou efeito positivo com a administração de vitamina E, em ratos obesos e com hiperlipidemia, tanto no parâmetro do perfil lipídico quando na diminuição do estresse oxidativo, determinado pelos níveis de isoprostanos urinários.

Esse resultado poderia ser explicado pelo fato da vitamina E não ter potente efeito inibidor do estresse oxidativo que se desenvolve a partir da obesidade e da hiperlipidemia. Em ratos, o consumo de uma dieta elevada em colesterol pode reduzir os efeitos dessa vitamina, fazendo com que níveis elevados ao extremo de lipídios plasmáticos, aproximadamente 250 mg/dL, não permitam que a

suplementação de vitamina E tenha qualquer impacto no metabolismo das lipoproteínas. Assim, vem sendo sugerido que a hiperlipidemia severa pode prevalecer sobre os benefícios da terapia antioxidante (PARKER et al., 1995).

Embora o tratamento tenha corrigido os fatores de risco associados ao AVE, nesse ensaio não foram encontrados efeitos sobre a função neurológica dos animais avaliada pela bateria de testes que investiga equilíbrio, resposta sensório-motora e cognição. Na realidade, não encontramos achados diferentes também entre os ratos do grupo controle e aqueles tratados, o que atribuímos à idade dos animais. Em trabalhos prévios, ficou claro o comprometimento neurológico e a presença de AIT em ratos somente a partir de 15 semanas de idade (PEREZ; VIANNA, 2005). Na fase adulta já bem instalada, seria, portanto, possível observar os sinais que antecedem ao AVE.

Por outro lado, foi demonstrado tanto em ratos Wistar como em ratos SHRSP, com indução da oclusão da artéria cerebral média, que a administração de alfa-tocoferol foi capaz de reduzir danos neuronais causados durante o processo de isquemia/reperfusão (TAGAMI et al., 1999; CHAUDHARY; SINHÁ; GUPTA, 2003; ZHANG et al., 2004).

7 CONCLUSÃO

Os dados do presente trabalho demonstraram que a suplementação de alfa-tocoferol em ratos SHRSP conseguiu reduzir a pressão arterial sistólica, o colesterol total e o LDL-colesterol e aumentar o HDL-colesterol. Além disso, essa vitamina mostrou-se eficaz na redução do estresse oxidativo.

Assim, esse trabalho sugere que o alfa-tocoferol, como um potente agente antihipertensivo, hipocolesterolêmico e antioxidante, pode despertar interesses futuros na utilização deste como um tratamento adjuvante às terapias convencionais nas doenças vasculares como a hipertensão arterial e conseqüentemente na prevenção do acidente vascular encefálico.

REFERÊNCIAS

ABOU-DONIA, M.B.; DECHKOVSKAIA, A.M.; GOLDSTEIN, L.B.; SHAH, D.U.; BULLMAN, S.L.; KHAN, W.A. Uranyl acetate-induced sensorimotor deficit and increased nitric oxide generation in the central nervous system in rats. *Pharmacol Biochem Behav.*, v. 72, n. 4, p. 881-890, 2002.

AKIRA, K.; IMACHI, M.; HASHIMOTO, T. Investigation into biochemical changes of genetic hypertensive rats using ¹H nuclear magnetic resonance based metabonomics. *Hypersens Res.*, v. 28, n. 5, p. 425-430, 2005.

ALEXANDROVA, M.L.; BOCHEV, P.G. Oxidative stress during the chronic phase after stroke. *Free Radic Biol Med.*, v. 39, n. 3, p. 297-316, 2005.

ANDRADE, J.P.; VILAS-BOAS, F.; CHAGAS, H.; ANDRADE, M. Epidemiological aspects of adherence to the treatment of hypertension. *Arq Bras Cardiol.*, v. 79, n. 4, p. 375-84, 2002.

BATRA, S.; RAKUSAN, K. Capillary length, tortuosity, and spacing in rat myocardium during cardiac cycle. *Am J Physiol.*, v. 263, p. 1369-1376, 1992.

BERTOLAMI, M.C.; BERTOLAMI, A. Epidemiologia das dislipidemias. *Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo.*, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

BORGES, A.C.; FERES, T.; VIANNA, L.M.; PAIVA, T.B. Cholecalciferol treatment restores the relaxant responses of spontaneously hypertensive rat arteries to bradykinin. *Phathophysiology*, v. 8, n. 4, p. 263-268, 2002.

BORGES, A.C.; FERES, T.; VIANNA, L.M.; PAIVA, T.B. Effect of cholecalciferol treatment on the relaxant responses of spontaneously hypertensive rat arteries to acetylcholine. *Hypertension.*, v. 34, n. 4, p. 897-901, 1999.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; TRABER, M.G. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.*, v. 13, p. 1145-1155, 1999.

BRONNER, L.L.; KANTER, D.S.; MANSON, J.E. Primary prevention of stroke. *N Engl J Med.*, v. 333, n. 21, p. 1392-1400, 1995.

CAI, H.; GRIENGLING, K.K.; HARRISON, D.G. The vascular NADPH oxidases as therapeutic targets in the cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol Sci.*, v. 24, n. 9, p. 471-478, 2003.

CAI, H.; HARRISON, D.G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.*, v. 87, n. 10, p. 840-844, 2000.

CAMPBELL, S.E.; RAKUSAN, K.; GERDES, A.M. Change in cardiac myocyte size distribution in aortic-constricted neonatal rats. *Basic Res Cardiol.*, v. 84, n. 3, p. 247-258, 1989.

CHAN, P. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab.*, v. 21, n. 1, p. 2-14, 2001.

CHAUDHARY, G.; SINHA, K.; GUPTA, Y.K. Protective effect of exogenous administration of α -tocopherol in middle cerebral artery occlusion model of cerebral ischemia in rats. *Fundam Clin Pharmacol.*, v. 17, n. 6, p. 703-707, 2003.

CHEN, J.; HE, J.; HAMM, L.; BATUMAN, V.; WHELTON, P.K. Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United States population. *Hypertension.*, v. 40, n. 6, p. 810-816, 2002.

CHING, S.; MAHAN, D.C.; WISEMAN, T.G.; FASTINGER, N.D. Evaluating the antioxidant status of weanling pigs fed dietary vitamins A and E. *J Anim Sci.*, v. 80, n. 9, p. 2396-401, 2002.

CHOW, C.K. Biological functions and metabolic fate of vitamin E revised. *J Biomed Sci.*, v. 11, n. 3, p. 295-302, 2004.

CLEUTJENS, J.; VERLUYTEN, M.J.; SMITHS, J.F.; DAEMEN, M.J. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol.*, v. 147, n. 2, p. 325-338, 1995.

COSTA, V.A.; VIANNA, L.M. Effects of alpha-tocopherol supplementation on blood pressure and lipidic profile in streptozotocin-induced diabetes mellitus in spontaneously hypertension rats. *Clin Chim Acta.*, v. 351, n. 1-2, p. 101-104, 2005.

COSTA, V.A.; VIANNA, L.M.; AGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Alpha-tocopherol supplementation favorable effects on blood pressure, blood viscosity and cardiac remodeling of spontaneously hypertension rats. *J Nutr Biochem.*, v. 16, n. 4, p. 251-6, 2005.

DOMINGUES, J.; ESTEVES, A.; SANTOS, A.; CARRAGETA, M. Arterial hypertension associated with hyperlipoproteinemia. *Rev Port Cardiol.*, v. 9, n. 1, p. 65-68, 1990.

DUTTA, A.; DUTTA, S.K. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: A review. *J Am Coll Nutr.*, v. 22, n. 4, p. 258-268, 2003.

DE CHAMPLAIN, J.; WU, R.; GIROUARD, H.; KARAS, M.; EL MIDAOU, A.; LAPLANTE, M.A.; WU, L. Oxidative stress in hypertension. *Clin Exp Hypertens.*, v. 26, n. 7-8, p. 593-601, 2004.

DE SOUZA, M.F.M.; ALENCAR, A.P.; MALTA, D.C.; MOURA, L.; MANSUR, A.P. Análise de Séries Temporais da Mortalidade por Doenças Isquêmicas do Coração e Cerebrovasculares, nas Cinco Regiões do Brasil, no Período de 1981 a 2001. *Arq Bras Cardiol.*, v. 87, n. 6, p. 735-740, 2006.

DEVARAJ, S.; TRABER, M.G. Gamma-tocopherol, the new vitamin E? *Am J Clin Nutr.*, v. 77, n. 3, p. 530-1, 2003.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.*, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.

DUSSE, L.M.S.; VIEIRA, L.M.; CARVALHO, M.G. Revisão sobre óxido nítrico. *J Bras Patol Med Lab.*, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

DUVALL, W.L. Endothelial dysfunction and antioxidants. *Mt Sinai Med.*, v. 72, n. 2, p. 71-80, 2005.

EL KOSSI, M.; ZAKHARY, M.M. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke.*, v. 31, n. 8, p. 1889-1892, 2000.

EMMERT, D.H.; KIRCHNER, J.T. The role of vitamin E in the prevention of heart disease. *Arch Fam Med.*, v. 8, n. 6, p. 537-542, 1999.

EVANS, H.M.; BISHOP, K.S. On the existent of a hitherto unrecognized dietary factor essencial for reproduction. *Science.*, v. 56, p. 649-651, 1922.

FIORELLI, S.; OLIVEIRA, C.A.B.; VIANNA, L.M. Vitaminas antioxidants: ácido ascórbico, tocoferol e caroteno apresentam efeito protetor no infarto cerebral. *Caderno Brasileiro de Medicina*, v.17, p. 177-181, 2006.

FLAHERTY, M.L.; WOO, D.; HAVERBUSCH, M.; SEKAR, P.; KHOURY, J.; SAUERBECK, L.; MOOMAW, C.J.; SCHNEIDER, A.; KISSELA, B.; KLEINDORFER, D.; BRODERICK, J.P. Racial variation in location and risk of intracerebral hemorrhage. *Stroke*, v. 36, n. 1, p. 934-937, 2005.

FRANCO, G. *Tabela de Composição Química de Alimentos*. 9ª ed, Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2007.

FRENOUX, J.M.R.; NOIROT, B.; PROST, E.D.; MADANI, S.; BLOND, J.P.; BELLEVILLE, J.L.; PROST, J.L. Very high alpha-tocoferol diet diminishes oxidative stress and hypercoagulation in hypertensive rats but not in normotensive rats. *Med Sci Monit.*, v. 8, n. 10, p. 401-407, 2002.

FUJIMOTO, S.T.; LONGHI, L.; SAATMAN, K.E.; CONTE, V.; STOCCHETTI, N.; MCINTOSH, T.K. Motor and function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci Biobeha Rev.*, v. 28, n. 4, p. 365-378, 2004.

FUJIMURA, M.; MORITA-FUJIMURA, Y.; KAWASE, M.; COPIN, J.C.; CALAGUI, B.; EPSTEIN, C.J.; CHAN, P.H. Manganese superoxide dismutase mediates the early release of mitochondrial cytochrome C and subsequent DNA fragmentation after permanent focal cerebral ischemia in mice. *J Neurosci.*, v. 19, n. 9, p. 3414-3422, 1999.

FUNCHS, S.C.; CASTRO, M.S.; FUNCHS, F.C. Adesão ao tratamento anti-hipertensivo: análise das evidências. *Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão*, v. 3, n. 7, p. 90-93, 2004.

FUSTER, V.; GOTTO, A.M.; LIBBY, P.; LOSCALZO, J.; MCGILL, H.C. Task force 1. Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. *J Am Coll Cardiol.*, v. 27, n. 5, p. 964-76, 1996.

GARBERS, D.L.; DUBOIS, S.K. The molecular basis of hypertension. *Annu Rev Biochem.*, v. 68, p. 127-155, 1999.

GARG, A.; VINAYA, S. Update on dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.*, v. 92, n. 5, p. 1581-1589, 2007.

GORDON, T.; KANNEL, W.B.; CASTELLI, W.P.; DAWBER, T.R. Lipoprotein, cardiovascular disease, and death: the Framingham Study. *Arch Intern Med.*, v. 141, n. 9, p. 1128-1131, 1981.

GUERRINI, U.; SIRONI, L. New insights into brain damage in stroke-prone rats - a nuclear magnetic imaging study. *Stroke.*, v. 33, n. 3, p. 825-30, 2002.

HAAPANIEMI, H.; HILLBOM, M.; JUVELA, S. Lifestyle-associated risk factors for acute brain infarction among persons of working age. *Stroke.*, v. 28, n. 1, p. 26-30, 1997.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. *Lancet.*, v. 355, n. 9210, p. 1179-1180, 2000.

HARRISON, D.; GRIENDLING, K.K.; LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol.*, v. 91, n. 3, p. 7-11, 2003.

HARRISON, D.G.; WIDDER, J.; GRUMBACH, I.; CHEN, W.; WEBER, M.; SEARLES, C. Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. *J Intern Med.*, v. 259, n. 4, p. 351-363, 2006.

HASTY, A.H.; GRUEN, M.L.; TERRY, E.S.; SURMI, B.K.; ATKINSON, R.D.; GAO, L.; MORROW, J.D. Effects of vitamin E on oxidative stress and atherosclerosis in an obese hyperlipidemic mouse model. *J Nutr Biochem.*, v. 18, n. 2, p. 127-133, 2007.

HERRERA, E.; BARBAS, C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.*, v. 57, n. 2, p. 43-56, 2001.

HODIS, H.N.; MACK, W.J.; LABREE, L.; MAHRER, P.R.; SEVANIAN, A.; LIU, C.R.; LIU, C.H.; HWANG, J.; SELZER, R.H.; AZEN, S.P. Alpha-tocopherol supplementation in health individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis. The vitamin E atherosclerosis prevention study (VEAPS). *Circulation.*, v. 106, p. 1453-1459, 2002.

HOUSTON, M.C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. *Prog Cardiovasc Dis.*, v. 47, n. 6, p. 396-449, 2005.

HUANG, C.Y. Nutrition and stroke. *Asia Pac J Clin Nutr.*, v. 16, n. 1, p. 266-74, 2007.

IKEDA, K.; NEGISHI, H.; YAMORI, Y. Antioxidant nutrient and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. *Toxicology*, v. 189, n. 1-2, p. 55-61, 2003.

INAGAWA, T.; OHBAYASHI, N.; TAKECHI, A.; SHIBUKAWA, M.; YAHARA, K. Primary intracerebral hemorrhage in Izumo City, Japan: incidence rates and outcome in relation to the site of hemorrhage. *Neurosurgery*, v. 53, n. 6, p. 1283-1287, 2003.

ISO, H.; JACOBS, D.R.; WENTWORTH, D.; NEATON, J.D.; COHEN, J.D. Serum cholesterol levels and the six-year mortality from stroke in 350977 men screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *N Engl J Med.*, v. 320, n. 14, p. 904-910, 1989.

JIALAL, I.; DEVARAJ, S. Antioxidants and atherosclerosis: don't throw out the baby with the bath water. *Circulation.*, v. 107, n. 7, p. 926-928, 2003.

JIANG, Q.; AMES, B.N. Gamma-tocopherol, but not alpha-tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation in rats. *FASEB.J.*, v. 17, n. 8, p. 816-822, 2003.

JOHNSON, F.; GIULIVI, C. Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med.*, v. 26, n. 4-5, p. 340-352, 2005.

JÓRDAN, J.; IKUTA, I.; GARCÍA-GARCÍA, J.; CALLEJA, S.; SEGURA, T. Stroke pathophysiology: management challenges and new treatment advances. *J. Physiol. Biochem.*, v. 63, n. 3, p. 261-278, 2007.

KAGAN, A.; POPPER, J.S.; RHOADS, G.G., YANO, K. Dietary and other risk factors for stroke in Hawaiian Japanese men. *Stroke.*, v. 16, n. 3, p. 390-396, 1985.

KEANEY, J.F.; SIMON, D.I; FREEDMAN, J.E. Vitamin E and vascular homeostasis: implication for atherosclerosis. *FASEB*, v. 13, n. 9, p. 965-975, 1999.

KELLER, J.; KINDY, M.S.; HOLTSBERG, F.W.; ST CLAIR, D.K.; YEN, H.C.; GERMEYER, A.; STEINER, S.M.; BRUCE-KELLER, A.J.; HUTCHINS, J.B.; MATTSON, M.P. Mitochondrial manganese superoxide dismutase prevents neural apoptosis and reduces ischemic brain injury: suppression of peroxynitrite production, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction. *J Neurosci.*, v. 18, n. 2, p. 687-697, 1998.

KOH, K.K.; AHN, J.Y.; HAN, S.H.; KIM, D.S.; JIN, D.K.; KIM, H.S.; SHIN, M.S.; AHN, T.H.; CHOI, I.S.; SHIN, E.K. Pleiotropic effects of angiotensin II receptor blocker in hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol.*, v. 42, n. 5, p. 905-910, 2003.

LACY, F.; GOUGH D.A.; SCHIMID-SCHONBEIN G.W. Role of xanthine oxidase in hydrogen peroxide production. *Free Radic Biol Med.*, v. 25; n. 6, p. 720-727, 1998.

LASSEGUE, B.; CLEMPUS, R.E. Vascular NADPH oxidases: specific features, expression, and regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, v. 285, n. 2, p 277-297, 2003.

LAVADOS, P.M.; HENNIS, A.J.; FERNANDES, J.G.; MEDINA, M.T.; LEGETIC, B.; HOPPE, A.; SACKS, C.; JADUE, L.; SALINAS, R. Stroke epidemiology, prevention, and management strategies at a regional level: Latin America and the Caribbean. *Lancet Neurol.*, v. 6, n. 4, p. 362-372, 2007.

LEE, C.D.; FOLSOM, A.R.; BLAIR, S.N. Physical Activity and Stroke Risk: A Meta-Analysis. *Stroke*, v. 34, n. 10, p. 2475-2482, 2003.

LEPPÄLÄ, J.M.; VIRTAMO, J.; FOGELHOLM, R.; ALBANËS, D.; HEINONEN, O.P. Different risk factors for different stroke subtypes. Association of blood pressure, cholesterol and antioxidants. *Stroke*, v. 30, n. 12, p. 2535-2540, 1999.

LI, J.J.; FANG, C.H.; CHEN, M.Z.; CHEN, X.; LEE, S.W. Activation of nuclear factor-kappaB and correlation with elevated plasma c-reactive protein in patients with unstable angina. *Heart Lung Circ.*, v. 13, n. 2, p. 173-178, 2004.

LINDERSTROM, E.; BOYSEN, G.; NYBOE, J. Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen city heart study. *Br Med J.*, v. 309, p. 11-15, 1994.

LIU, Y.; ZHAO, H.; LI, H.; KALYANARAMAN, B.; NICOLOSI, A.C.; GUTTERMAN, D.D. Mitochondrial sources of H₂O₂ generation play a key role in flow-mediated dilation in human coronary resistance arteries. *Cir Res.*, v. 93, n. 6, p. 573-580, 2003.

MADAMANCHI, N.R.; VENDROV, A.; RUNGE, M.S. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v. 25, n. 1, p. 29-38, 2005.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, M.A. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 11^a ed, São Paulo: Editora Roca, 2005.

MATOBA, T.; SHIMOKAWA, H.; NAKASHIMA, M.; HIRAKAWA, Y.; MUKAI, Y.; HIRANO, K.; KANAIDE, H.; TAKESHITA, A. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarization factor in mice. *J Clin Invest.*, v. 106, n. 12, p. 1521-1530, 2000.

MAYER, S.A.; RINCON, F. Treatment of intracerebral hemorrhage. *Lancet Neurol.*, v. 4, n. 4, p. 662-672, 2005.

McBRIDE, M.W.; BROSNAN, M.J.; MATHERS, J.; McLELLAN, L.I.; MILLER, W.H.; GRAHAM, D.; HANLON, N.; HAMILTON, C.A.; POLKE, J.M.; LEE, W.K.; DOMINICZAK, A.F. Reduction of *Gstm1* Expression in the Stroke-Prone Spontaneously Hypertension Rat Contributes to Increased Oxidative Stress. *Hypertension.*, v. 45, n. 4, p. 786-792, 2005.

McCALL, M.R.; TANG, J.Y.; BIELICKI, J.K.; FORTE, T.M. Inhibition of lecithin-cholesterol acyltransferase and modification of HDL apolipoproteins by aldehydes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v. 15, n. 10, p. 1599-1606, 1995.

McINTYRE, M.; HAMILTON, C.A.; REES, D.D.; REID, J.L.; DOMINICZAK, A.F. Six difference in the abundance of endothelial nitric oxide in a model of genetic hypertension. *Hypertension.*, v. 30, n. 6, p. 1517-1524, 1997.

MENDEZ, J.L.; NICHOLSON, W.J.; TAYLOR, W.R. SOD isoforms and signaling in blood vessels: evidence for the importance of ROS compartmentalization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v. 25, n. 5, p. 887-888, 2005.

MERVAALA, E.M.; CHENG, Z.J.; TIKKANEN, I.; LAPATTO, R.; NURMINEN, K.; VAPAATALO, H.; MÜLLER, D.N.; FIEBELER, A.; GANTEN, U.; GANTEN, D.; LUFT, F.C. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension.*, v. 37, n. 2, p. 414-428, 2001.

MICHEL, L.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; MAS, E.; DRAI, J.; THEROND, P. Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects. *Ann Biol Clin.*, v. 66, n. 6, p. 605-620, 2008.

MICHIHARA, A.; SAWAMURA, M.; YAMORI, Y.; AKASAKI, K.; TSUJI, H. Comparison of Subcellular Distribution of Mevalonate Pyrophosphate Decarboxylase between Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat and Wistar Kyoto Rat. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 25, n. 6, p. 734-737, 2002.

MISHRA, G.D.; MALIK, N.S.; PAUL, A.A.; WADSWORTH, M.E.; BOLTON-SMITH, C. Childhood and adult dietary vitamin E intake and cardiovascular risk factors in mid-life in the 1946 British Birth Cohort. *Eur J Clin Nutr.*, v. 57, p. 1418-1425, 2003.

MIURA, S.; SAKU, S. Therapies for raising high-density lipoprotein cholesterol. *Intern Med.*, v. 46, n. 7, p. 339-340, 2007.

MOREIRA, R.O.; SANTOS, R.D.; MARTINEZ, L.; SALDANHA, F.C.; PIMENTA, J.L.A.C.; FEIJOO, J.; JAHNKE, N.; MANGILE, O.C.; KUPFER, R. Perfil lipídico de pacientes com alto risco para eventos cardiovasculares na prática clínica diária. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 50, n. 3, p. 481-489, 2005.

MURAKAMI, K.; KONDO, T.; KAWASE, M.; LI, Y.; SATO, S.; CHEN, S.F.; CHAN, P.H. Mitochondrial susceptibility to oxidative stress exacerbates cerebral infarction that follows permanent focal cerebral ischemia in mutant mice with manganese superoxide dismutase deficiency. *J Neurosci.*, v. 18, n. 1, p. 205-213, 1998.

NANETTI, L.; TAFFI, R.; VIGNINI, A.; MORONI, C.; RAFFAELLI, F.; BACCHETTI, T.; SILVESTRINI, M.; PROVINCIALI, L.; MAZZANTI, L. Reactive oxygen species plasmatic levels in ischemic stroke. *Mol Cell Biochem.*, v. 303, n. 1-2, p. 19-25, 2007.

NEWAZ, M.A.; NAWAL, N.N.; ROHAIZAN, C.H.; MUSLIM, N.; GAPOR, A. Alpha-tocopherol increased nitric oxide synthase activity in blood vessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens.*, v. 12, n. 8-1, p. 839-844, 1999.

NICKENIG, G.; HARRISON, D.G. The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: part I: oxidative stress and atherogenesis. *Circulation.*, v. 105, n.3, p. 393-396, 2002.

NOGUCHI, T.; IKEDA, K.; SASAKI, Y.; YAMAMOTO, J.; SEKI, J.; YAMAGATA, K.; NARA, Y.; HARA, H.; KAKUTA, H.; YAMORI, Y. Effects of vitamin E and sesamin on hypertension and cerebral thrombogenesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res.*, v. 24, n. 6, p. 735-742, 2001.

OKAMOTO, K.; YAMORI, Y.; NAGAOKA, A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Cir Res.*, v. 34-35, n. 31, p. 143, 1974.

OZER, N.K.; PALOZZA, P.; BOSCOBOINIK, D.; AZZI, A. D-alpha-tocopherol inhibits low density lipoprotein induced proliferation and protein C kinase activity in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.*, v. 322, n. 3, p. 307-10, 1993.

PARAVICINI, T.M.; CHRISOBOLIS, S.; DRUMMOND, G.R.; SOBEY, C.G. Increased NADPH oxidase activity and Nox4 expression during chronic hypertension is associated with enhance cerebral vasodilatation to NADPH in vivo. *Stroke*, v. 35, n. 2, p. 584-589, 2004.

PARAVICINI, T.M.; TOUYZ, R.M. NADPH oxidase, reactive oxygen species and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*, v. 31 n. 2, p. 170-180, 2008.

PARKER, R.A.; SABRAH, T.; CAP, M.; GILL, B.T. Relation of vascular oxidative stress, alpha-tocopherol, and hypercholesterolemia to early atherosclerosis in hamsters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v. 15, n. 3, p. 349-358, 1995.

PAWLAK, K.; PAWLAW, D.; MYSLIWIEEC, M. Method of dialysis therapy and selected markers of oxidative stress and endothelial injury in patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med Wewn.*, v. 113, n. 1, p. 21-26, 2005.

PEREZ, S.C.; VIANNA, L.M. Favorable effect of pyridoxine and folic acid supplementation of SHRSP. *Archivos de Neurociencias*, v. 10, n. 3, p. 146-149, 2005.

PRATICO, D. Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*, v. 181, n. 2, p. 215-24, 2005.

PRYOR, W.A. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med.*, v. 28, n. 1, p. 141-164, 2000.

REDON, J.; OLIVA, M.R.; TORMOS, C.; GINER, V.; CHAVES, J.; IRADI, A.; SÁEZ, G.T. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension.*, v. 41, n. 5, p. 1096-1101, 2003.

REED, D.M. The paradox of high risk of stroke in population with low risk of coronary heart disease. *Am J Epidemiol.*, v. 131, n. 4, p. 579-588, 1989.

RENNING, P.; SORTEBERG, W.; NAKSTAD, P.; RUSSELL, D.; HELSETH, E. Aspects of intracerebral hematomas - an update. *Acta Neurol Scand.*, v. 118, n. 6, p. 347-361, 2008.

RICHTER, A.; GONDEK, K.; OSTROWSKI, C.; DOMBECK, M.; LAMB, S. Mild-to-moderate uncomplicated hypertension: further analysis of a cost-effectiveness study of a five drugs. *Manag Care Interface.*, v. 14, n. 7, p. 61-69, 2001.

RIGOTTI, A. Absorption, transport and tissue delivery of vitamin E. *Mol Aspects Med.*, v. 28, n. 5-6, p. 423-436, 2007.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie.*, v. 26; n. 1, p. 57-60, 1970.

SCHIFFRIN, E.L.; PARK, J.B.; INTERGAN, H.D.; TOUYZ, R.M. Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by angiotensin receptor antagonist lasartan. *Circulation.*, v. 101, n. 14, p. 1653-1659, 2000.

SCHWENKE, D.C.; BEHR, S.R. Vitamin E combined with selenium inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits independently of effects on plasma cholesterol concentrations. *Circ Res.*, v. 83, n. 4, p. 366-377, 1998.

SHEN, G.X.; NOVAK, C.; ANGEL, A. Effect of dietary vitamin E supplements on cholesteryl ester transfer activity in hamster adipose tissue. *Atherosclerosis*, v. 124, n. 2, p. 211- 9, 1996.

SUZUKI, H.; DELANO, F.A.; PARKS, D.A.; JAMSHIDI, N.; GRANGER, D.N.; ISHII, H.; SUEMATSU, M.; ZWEIFACH, B.W.; SCHMID-SCHÖNBEIN, G.W. Xanthine oxidase activity associated with arterial blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Proc Natl Acad Sci USA.*, v. 95, n. 8, p. 4754-4759, 1998.

TABET, F.; SAVOIA, C.; SCHIFFRIN, E.L.; TOUYZ, R.M. Differential calcium regulation by hydrogen peroxide and superoxide in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.*, v. 44, n. 2, p. 200-208, 2004.

TAGAMI, M.; IKEDA, K.; YAMAGATA, K.; NARA, Y.; FUJINO, H.; KUBOTA, A.; NUMANO, F.; YAMORI, Y. Vitamin E prevents apoptosis in hippocampal neurons caused by cerebral ischemia and reperfusion in stroke prone spontaneously hypertensive rats. *Lab. Invest.*, v. 79, n. 5, p. 609-615, 1999.

TAIN, Y.L.; BAYLIS, C. Dissecting the causes of oxidative stress in an vivo model of hypertension. *Hypertension*, v. 48, n. 5, p. 828-829, 2006.

TAKEDA, Y. Vascular synthesis of aldosterone: role in hypertension. *Moll Cell.*, v. 217, n. 1-2, p. 75-79, 2004.

THRIFT, A.G.; DEWEY, H.M.; MACDONELL, R.A.; MCNEIL, J.J.; DONNAN, G.A. Incidence of the major stroke subtypes: initial finding from the North East Melbourne stroke incidence study (NEMESIS). *Stroke*, v. 32, n. 8, p. 1732-1738, 2001.

THRIFT, A.G.; MCNEIL, J.J.; FORBES, A.; DONNAN, G.A. Three important subgroups of hypertensive persons at greater risk of intracranial hemorrhage. Melbourn Risk Factor Study Group. *Hypertension*, v. 31, n. 6, p. 1223-1229, 1998.

TORNWALL, M.R.; VIRTAMO, J.; KORHONEN, P.A.; VIRTANEN, M.J.; ALBANES, D.; HUTTUNEN, J.K. Posintervention effect of alpha tocopherol and beta carotene on different strokes: a 6 years follow-up of the alpha tocopherol, beta carotene cancer prevention study. *Stroke*, v. 35, n. 8, p. 1908-1913, 2004.

TOUYZ, R.M. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v. 14, n. 14, p. 125-131, 2005.

TOUYZ, R.M. Reactive oxygen species in vascular biology: role in arterial hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther.*, v. 1, n. 1, p. 91-106, 2003.

VASDEV, S.; GILL, V.; PARAI, S.; LONGERICH, L.; GADAG, V. Dietary vitamin E supplementation lowers blood pressure in SHR. *Mol Cell Biochem.*, v. 128, n. 1-2, p. 111-117, 2002.

VAZIRI, N.D.; NI, Z.; OVEISI, F.; TRNAVSKY-HOBBS, D.L. Effect of antioxidant therapy on blood pressure and NO synthase expression in hypertensive rats. *Hypertens.*, v. 36, p. 957-964, 2000.

VAZIRI, N.D.; RODRIGUEZ-ITURBE, B. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol.*, v. 2, n. 10, p. 582-593, 2006.

VIANNA, L.M. *Manual de Fisiologia Experimental*. Yendis Editora, 2009.

VIANNA, L.M. O estresse oxidativo nas doenças neurológicas. *Cadernos do Núcleo de Estudo e Pesquisa da Escola de Nutrição (NEPEN)*, n. 10, p. 47-49, 2005.

VIANNA, L.M.; PAIVA, A.C.M.; PAIVA, T.B. Treatment with vitamin D3 reduces blood pressure of SHR. *Gen Hypertension.*, v. 218, p. 589-91, 1992.

WOLIN, M.S. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v. 20, n. 26, p. 1430-1442, 2000.

XAVIER, H.T.; ABDALLA, D.S.P.; MARTINEZ, T.L.R; RAMIRES, J.A.F; GAGLIARD, A.R.T. Efeitos da lipoproteína LDL-oxidada sobre a proliferação e a motilidade espontânea *in vitro* de células endoteliais de artérias coronárias humanas. *Arq Bras Cardiol.*, v. 83, n. 6, p. 488-492, 2004.

YACHUM, G.S.; FOLSOM, A.R.; KUSHI, LH. Intake of antioxidant vitamins and risk of death from stroke in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.*, v. 72, n. 2, p. 476-483, 2000.

YANO, K.; REED, D.M.; MACLEAN, C.J. Serum cholesterol and hemorrhagic stroke in the Honolulu Heart Program. *Stroke*, v. 20, n. 11, p. 1460-1465, Nov. 1989.

ZALBA, G.; SAN JOSE, G.; MORENO, M.; FORTUNO, M.; FORTUNO, A.; BEAUMONT, F.; DIEZ, J. Oxidative stress in arterial hypertensive: role of NADPH oxidase. *Hypertension.*, v. 38, p. 1395-1399, 2001.

ZHANG, B.; TANAKA, J.; YANG, L.; YANG, L.; SAKANAKA, M.; HATA, R.; MAEDA, N.; MITSUDA, N. Protective effect of vitamin E against focal brain ischemia and neuronal death through induction of target genes of hypoxia-inducible factor-1. *Neuroscience*, v. 126, n. 2, p. 433-440, 2004.

ZIDEK, W.; NADITCH-BRULÉ, L.; PERLINI, S.; FARSANG, C.; KJELDEN, S.E. Blood pressure control and component of the metabolic syndrome: the Good Survey. *Cardiovasc Diabetol.*, v. 8, n. 50, p. 1-9, 2009.