



Comparação dos efeitos da administração crônica de L-Arginina e L-Arginina associada ao Maleato de Enalapril na pressão arterial de ratos submetidos a um modelo experimental de hipertensão arterial

Comparison of the effects of chronic administration of L-arginine and L-arginine associated with enalapril maleate in blood pressure of rats submitted to a experimental model of hypertension

Nilo César do Vale Baracho¹
Gabriel Fernandes Silva²
Diogo dos Santos Viotti Bernardes²
Rodrigo Chiaradia Souza de Oliveira²

1 - Farmacêutico-Bioquímico, Mestre em Fisiologia e Farmacologia e doutorando em Ciências da Saúde, Professor Adjunto de Farmacologia e Bioquímica da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt) - Itajubá/MG.
2 - Médico, Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt).

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Itajubá - /MG

Correspondência:

Nilo César do Vale Baracho.
Faculdade de Medicina de Itajubá
Av. Renó Júnior, 368. São Vicente
Itajubá/MG. CEP: 37502-138.
Tel: (35) 3629-8700.
E- mail: nilocvbaracho@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos da suplementação de L-Arginina e L-Arginina associada ao maleato de enalapril na pressão arterial média (PAM) de ratos hipertensos. **Materiais e Métodos:** Quarenta e oito ratos machos, adultos, da linhagem *Wistar* foram utilizados, divididos em seis grupos (n=8), de acordo com o tratamento. Os animais foram submetidos a cirurgia para indução de hipertensão arterial pelo modelo de Grollman modificado. Quinze dias após a cirurgia os ratos hipertensos (PAM > 140mmHg) receberam diariamente pelo método de gavagem diferentes tipos de tratamento, durante trinta dias. A PAM foi aferida duas vezes por semana, por pletismografia de cauda. Ao final do período experimental os ratos foram anestesiados (Cetamina/Xilazina, I.P). **Resultados:** O tratamento com L-Arginina reduz significativamente a PAM a partir do terceiro dia quando comparada ao grupo Controle. Como esperado, o tratamento com maleato de enalapril 2,5 mg/Kg e 5,0 mg/Kg também reduziu significativamente a PAM a partir do sexto dia quando comparada ao grupo Controle. A associação entre L-Arginina e maleato de enalapril 2,5mg/Kg reduziu significativamente a PAM quando comparada ao grupo Controle a partir do sexto dia e a partir do terceiro dia usando maleato de enalapril 5,0mg/Kg e se manteve durante todo o período experimental. **Conclusão:** Os dados indicam que o tratamento com L-Arginina associada ao maleato de enalapril 5,0mg/Kg reduz significativamente e mais rápido a PAM quando comparada aos outros grupos.

Palavras-chave: L-Arginina, óxido nítrico, hipertensão.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the effects of supplemental L-Arginine and L-Arginine combined with enalapril on mean arterial pressure (MAP) of rats subjected to a model of hypertension. **Materials and methods:** Forty-eight male, adult, *Wistar* rats were used, allocated in six groups (n=8), according to the treatment. The animals were submitted to experimental surgery for induction of hypertension by modified Grollman model. Fifteen days after surgery the hypertensive rats (MAP>140mmHg) received daily by gavage for thirty days, different types of treatments. Mean arterial pressure was measured by tail pletismography twice a week. At the end of experimental period, the rats were anesthetized (Ketamine/Xylazin, I.P) and their blood were analyzed. **Results:** Treatment with L-Arginine produced a significant reduction in MAP from the third day when compared to the Control group. As expected, the treatment with Enalapril Maleate 2,5 mg/Kg and 5,0 mg/Kg also significantly reduced the MAP from the sixth day as compared to Control and remained through the experimental period. The association between L-Arginine and Enalapril Maleate 2,5 mg/Kg produced a significant reduction in MAP when compared with Control from the sixty day and from the third day using Enalapril Maleate and remained through the experimental period. **Conclusion:** These data indicate that the treatment with L-arginine and L-Arginine associated with enalapril maleate 5,0mg/Kg reduces the MAP faster and significantly compared with the other groups.

Keywords: L-Arginine, nitric oxide, hypertension.

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais.¹⁻⁴

A HAS tem alta prevalência e baixas taxas de controle, é considerada um dos principais fatores de risco (FR) modificáveis e um dos mais importantes problemas de saúde pública. A mortalidade por doença cardiovascular (DCV) aumenta progressivamente, com a elevação da PA a partir de 115/75mmHg de forma linear, contínua e independente.¹ Em 2001, cerca de 7,6 milhões de mortes no mundo foram atribuídas à elevação da PA (54% por acidente vascular encefálico – AVE e 47% por doença isquêmica do coração – DIC),⁴ sendo a maioria em países de baixo e médio desenvolvimento econômico e mais da metade, em indivíduos entre 45 e 69 anos. Em nosso país, as DCV têm sido a principal causa de morte. Em 2007, ocorreram 308.466 óbitos por doenças do aparelho circulatório.² Entre 1990 a 2006, observou-se uma tendência lenta e constante de redução das taxas de mortalidade cardiovascular.

As DCV são ainda responsáveis pela alta frequência de internações, ocasionando custos médicos e socioeconômicos elevados.¹⁻³ Como exemplo, em 2007 foram registradas 1.157.509 internações por DCV no SUS. Em relação aos custos, em novembro de 2009, houve 91.970 internações por DCV, resultando num custo de R\$165.461.644,33.⁵

A doença renal terminal, outra condição frequente na HAS, ocasionou a inclusão de 94.282 indivíduos em programa de diálise no SUS, registrando-se 9.486 óbitos em 2007.⁵

Inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos 20 anos apontaram uma prevalência de HAS acima de 30%.^{6,7}

Considerando-se valores de PA \geq 140/90mmHg, 22 estudos encontraram prevalências entre 22,3% e 43,9%, (média de

32,5%), com mais de 50% dos indivíduos com idade entre 60 e 69 anos e 75%, acima de 70 anos.^{6,7}

Entre os gêneros, a prevalência foi de 35,8% nos homens e de 30% nas mulheres, semelhante à outros países.⁸ Revisão sistemática quantitativa de 2003 a 2008, de 44 estudos em 35 países, revelou uma prevalência global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres.⁸

O objetivo primordial do tratamento da HAS é a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares.^{9,10}

Assim, os anti-hipertensivos devem não só reduzir a PA, mas também os eventos cardiovasculares fatais e não fatais, e, se possível, a taxa de mortalidade. As evidências provenientes de estudos de desfechos clinicamente relevantes, com duração relativamente curta, de três a quatro anos, demonstram redução de morbidade e mortalidade em estudos com diuréticos,¹¹⁻¹⁴ betabloqueadores,^{11,12,15,16} inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA),^{14,17-21} bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina (BRA II)²²⁻²⁸ e com antagonistas dos canais de cálcio (ACC),^{14,17,21,29-33} embora a maioria dos estudos utilizem, no final, associação de anti-hipertensivos.

Este benefício é observado com a redução da PA *per se*, e, com base nos estudos disponíveis até o momento, parece independe da classe de medicamentos utilizados.³⁴ Metanálises recentes indicam que este benefício é de menor monta com betabloqueadores, em especial com atenolol, quando em comparação com os demais anti-hipertensivos.³⁵⁻³⁷

Os fármacos IECA, além do seu efeito anti-hipertensivo, ainda possuem efeitos na prevenção e regressão da hipertrofia do ventrículo esquerdo.³⁸⁻⁴⁰

Foi demonstrado que os IECAs, não interferem somente na conversão de angiotensina I em angiotensina II. Esses fármacos também atuam no sistema Calicreína-Cininas, diminuindo a ação da bradicinina, sendo esta última responsável pela ativação de várias cascatas intercelulares, especialmente a de ativação das óxido nítrico sintetases (NOS).⁴¹⁻⁴⁴

A família de enzimas NOS pode ser dividida em três diferentes isoformas: tipo I ou neuronal (nNOS); tipo II ou induzível (iNOS);

tipo III ou endotelial (eNOS) e sua principal função é a produção de óxido nítrico (NO).^{45,46}

O NO é um gás inorgânico, que inicialmente era denominado fator de relaxamento derivado do endotélio.⁴⁷ Este gás é formado a partir do aminoácido L-arginina, por uma reação catalizada pela NOS.⁴⁸ O NO é responsável por vários efeitos fisiológicos essenciais, dentre eles, o mais importante no controle da pressão sanguínea é a vasodilatação pela ativação de segundos mensageiros na musculatura lisa dos vasos.⁴⁹⁻⁵¹ Além disso, vários estudos mostram uma associação entre aumento de fatores de risco cardiovascular com: diminuição da expressão de eNOS; disponibilidade reduzida de L-arginina e inativação acelerada de NO.^{52,53}

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de L-Arginina e L-Arginina associada ao maleato de enalapril na pressão arterial média (PAM) de ratos submetidos a um modelo de hipertensão arterial.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos laboratórios de fisiologia e de informática e na sala de experimentação animal do biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIT) e obedeceu à Lei Federal 11.794, de 2008 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados quarenta e oito ratos *Wistar* adultos, machos, com peso variando entre 220 e 300 g e com idade entre 60 e 90 dias, oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá foram submetidos a um modelo de cirurgia experimental, pelo modelo de Grollman modificado. Para tal, os animais foram anestesiados com éter e, após constatada anestesia, submetidos à assepsia de acordo com a técnica cirúrgica e feita incisão abdominal para-mediana à esquerda, a fim de se atingir a loja renal esquerda. Após liberação do rim esquerdo, o mesmo foi submetido a técnica de isquemia por meio de fio de algodão, utilizando-se compressão em “oito”. Após esta técnica, foi realizada revisão e sutura da cavidade abdominal. Quinze dias após a primeira cirurgia, os animais foram novamente anestesiados com éter e, após constatada

anestesia, foram submetidos à assepsia de acordo com a técnica cirúrgica e submetidos a incisão abdominal para-mediana direita, a fim de se atingir a loja renal direita. O rim era exposto e realizada nefrectomia total à direita.⁵⁴ Após o término do procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com água e ração *ad libitum* e submetidos a ciclo claro-escuro de 12 horas, evitando-se, assim, o estresse da manipulação.

Os animais foram separados em seis grupos (n=8), de acordo com o tratamento. Após quinze dias de cirurgia, os ratos hipertensos (considerados com pressão arterial média (PAM) > 140mmHg) foram selecionados e receberam, pelo método de gavagem, os seguintes tratamentos pelo período de trinta dias:

- Grupo 01- (Controle) água de torneira, V.O por gavagem (n=8)
- Grupo 02- 500 mg/Kg de L-arginina, V.O por gavagem (n=8)
- Grupo 03- 500 mg/Kg de L-arginina + 2,5 mg/Kg de maleato de enalapril, V.O por gavagem (n=8)
- Grupo 04- 500 mg/Kg de L-arginina + 5,0 mg/Kg de maleato de enalapril, V.O por gavagem (n=8)
- Grupo 05- 2,5 mg/Kg de maleato de enalapril, V.O por gavagem (n=8)
- Grupo 06- 5,0 mg/Kg de maleato de enalapril, V.O por gavagem (n=8)

A L-arginina utilizada foi do laboratório Vetec e o Maleato de Enalapril foi o Renitec[®] do laboratório Merck Sharp Dohme e foram administrados na forma de comprimidos dissolvidos em água, sendo a dose estipulada, realizada após revisão bibliográfica na literatura. Porém, no intuito de identificar um possível efeito sinérgico da administração associada dos fármacos, foi usada sub-doses do inibidor da ECA.^{55,56,57}

A PAM foi mensurada duas vezes por semana, pelo método de plestimografia de calda, que consiste na contenção mecânica do animal e posterior alojamento deste numa gaiola por aproximadamente cinco minutos com lâmpada incandescente de 100 W acoplada, a fim de aquecê-lo. Esse aquecimento reduz o estresse e, conseqüentemente, melhora o fluxo sanguíneo.⁵⁸ A plestimografia de cauda utiliza

um manguito de cauda (“tail cuff”) acoplado a uma coluna de mercúrio. Sendo assim, após aquecimento e colocação do manguito na base da cauda, a extremidade da mesma é colocada numa câmara vedada de borracha, que a comprime. Segue-se com a insuflação do manguito e verificação da pressão, segundo a variação da coluna de mercúrio.^{59,60,61}

Ao final do período experimental, os animais foram anestesiados (Ketamina/Xilazina, intra-peritoneal) e realizada a eutanásia por meio da punção aspirativa do ventrículo esquerdo.

Para a realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o Software STATISTICA® instalado nos computadores do laboratório de informática da Faculdade de Medicina de Itajubá. Na análise estatística foi utilizado o teste de Student, entre dois grupos independentes, para a comparação dos grupos em cada momento, com o cálculo das estatísticas t e p. Foi utilizada a análise de variância para a comparação dos momentos em cada grupo, com o cálculo das estatísticas t e p. Nos casos em que p foi menor que 0,05, a estatística era considerada significativa. Quando p situou-se entre 0,05 e 0,10 foi referido como tendência à significância onde p é a probabilidade de erroneamente concluir pela significância.⁶²

RESULTADOS

No grupo em tratamento com L-Arginina observou-se uma redução da PAM estatisticamente significativa, quando comparada ao grupo Controle, no terceiro dia (136,8mmHg \pm 6,5 contra 154,0mmHg \pm 11,6, p < 0,05). Após este início, o efeito anti-hipertensivo da L-Arginina manteve-se estável durante os próximos 27 dias do período experimental.

Como esperado, os tratamentos com Maleato de Enalapril 2,5 mg/Kg e 5,0 mg/kg também apresentaram uma redução estatisticamente significativa da PAM, quando comparados ao Grupo Controle, porém esta teve início no sexto dia de tratamento (121,7mmHg \pm 14,6 contra 153,6mmHg \pm 11,6, p < 0,01 e 122,8mmHg \pm 9,5 contra 153,6mmHg \pm 10,5, p < 0,01, respectivamente).

Os grupos tratados com L-Arginina + Maleato de Enalapril 2,5 mg/Kg, a partir do sexto dia (122,3mmHg \pm 11,3 contra 154mmHg \pm 11,6, p < 0,01) e o grupo tratado com L-Arginina + Maleato de Enalapril 5,0 mg/Kg, a partir do terceiro dia, tiveram esta queda (125,4mmHg \pm 13,7 contra 154mmHg \pm 11,6, p < 0,01) e ambos mantiveram-se alterados até o final do período experimental. (Figura 1)

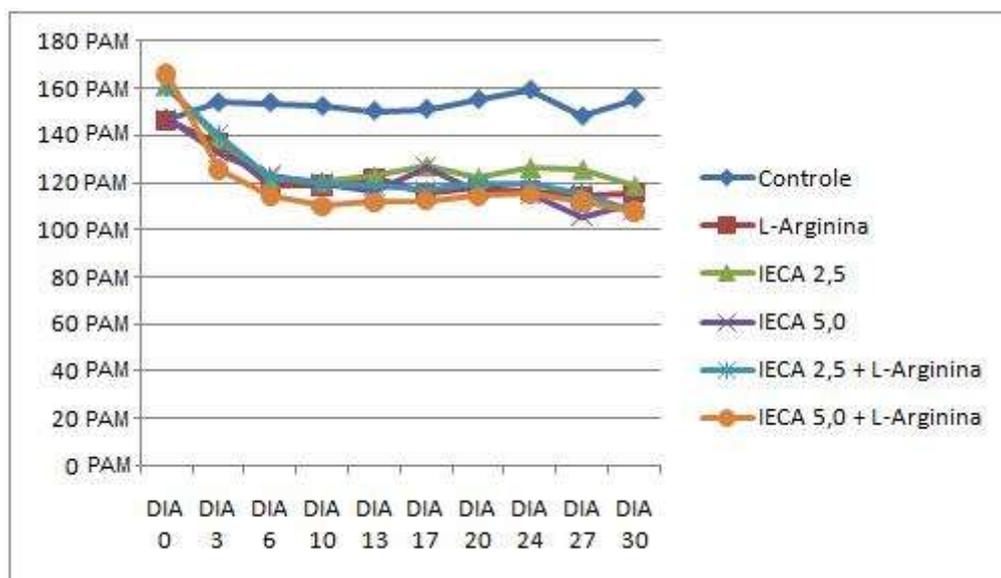


Figura 1: Variação da pressão arterial média (PAM) pelo tempo de tratamento, nos diferentes tipos de tratamento.

Quando comparada as variações do peso corporal não observou-se diferenças

estatisticamente significantes entre os grupos ($p > 0,05$). (Figura 2)

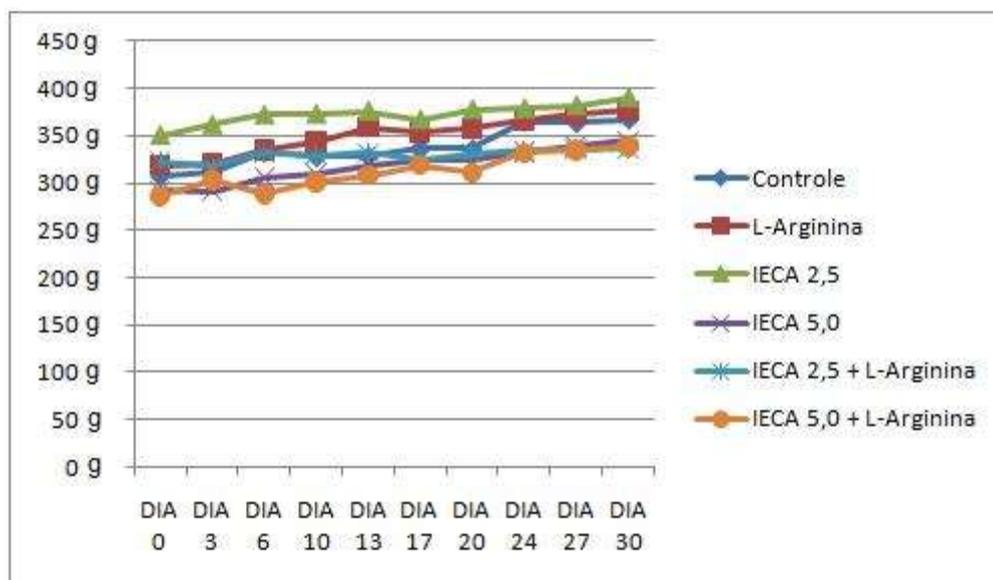


Figura 2: Variação de peso pelo tempo de tratamento, nos diferentes tipos de tratamento.

DISCUSSÃO

Como esperado, houve uma diminuição dos níveis pressóricos estatisticamente significativa nos grupos em tratamento com a L-Arginina, quando comparado ao grupo Controle, que corrobora com os dados presentes nos trabalhos de Brunini *et al.* (2006). Este trabalho avaliou o papel do óxido nítrico na hipertensão pulmonar, mostrando diminuição dos seus valores e levando a disfunção endotelial. Sander *et al.* (1999) avaliaram os mecanismos neurais do efeito do óxido nítrico na regulação da pressão arterial e obtiveram resultados semelhantes. Estes resultados também foram observados no trabalho de Förstermann *et al.* (1994).^{49,50,51}

Esta mesma redução foi observada nos trabalhos de Gouvêa *et al.* (2003), que encontraram uma redução de 23% na pressão arterial média (PAM) de ratos hipertensos após 7 dias de administração oral de L-Arginina em um modelo de hipertensão renovascular (2 rins 1 clipe).⁶³

Porém, em alguns trabalhos, não foram observados redução da PAM utilizando-se L-Arginina de forma crônica, como nos trabalhos de Frantisek Kristek (1998), Chen & Sanders (1991), Stier, Sim & Levine (1991) e Matsuoka *et al.* (1996).^{64,65} Isso provavelmente se deve a dose utilizada em tais experimentos (300mg/kg), demonstrando necessidade de altas doses de L-Arginina (a partir de 500mg/kg) para que se obtenha efeito hipotensor significativo e melhora na microperfusão periférica.⁶⁶

Os grupos tratados apenas com o Maleato de Enalapril também apresentaram valores menores da PA, quando comparados ao grupo Controle, o que também já está referenciado em vários experimentos, por exemplo no trabalho de Kannel *et al.* (1996) que através de uma pesquisa retrospectiva observaram a urgência na indicação desta terapia em pacientes hipertensos, visando uma redução dos riscos de eventos cardiovasculares. Psaty *et al.* (1977) e Wright *et al.* (1999) consideraram o uso de Maleato de Enalapril, como uma das primeiras drogas a serem utilizadas no tratamento da HAS. Este tratamento, como mostrado no trabalho de Hansson *et al.* (1999), além de diminuir a PA diminui a morbidade e mortalidade de pacientes hipertensos e portanto, é aceito a décadas como tratamento em humanos da HAS.^{1,9,11,12,18}

Não foram observados diferenças pressóricas quanto aos grupos tratados apenas com o Maleato de Enalapril, em comparação com os grupos Maleato de Enalapril mais L-arginina, porém não há estudos comparando estes grupos na literatura.

Dessa forma, os dados obtidos indicam que tanto o tratamento somente com L-Arginina ou com Maleato de Enalapril, assim como L-Arginina associada ao Maleato de Enalapril reduziram significativamente a PAM dos animais.

Pode-se concluir também que o grupo tratado apenas com L-Arginina e o grupo tratado com L-Arginina associada ao Maleato de Enalapril 5,0 mg/Kg apresentaram uma

redução mais rápida da PAM, quando comparados com os outros grupos estudados.

Não se observou alteração dos pesos corporais dos animais, porém é necessário um estudo de alterações do sistema ósteo-muscular e das cartilagens em um próximo trabalho, além de tentar-se determinar a dose mínima de L-Arginina que produzirá um efeito anti-hipertensivo.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos indicam que tanto o tratamento isolado com L-Arginina ou maleato de enalapril nas doses estudadas ou a associação dessas substâncias reduz significativamente a PAM quando comparada ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Arq Bras Cardiol. 2006 fev 13;(supl):5-45.
2. Malta DC, Mouse L, Souza FM, Rocha FM, Fernandes FM. Doenças crônicas não-transmissíveis: mortalidade e fatores de risco no Brasil, 1990 a 2006 in Saúde Brasil 2008. Brasília: Ministério da Saúde; 2009. p.337-62.
3. Documentos do Banco Mundial. Enfrentando o desafio das doenças não-transmissíveis no Brasil. Relatório N° 32576-BR. 15 de novembro de 2005.
4. Williams B. The year in hypertension. JACC. 2010;55(1):66-73.
5. Ministério da Saúde. DATASUS. [Internet]. [Acesso 2009 jan 24]. Disponível em: <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php?area=0203>.
6. Cesarino CB, Cipullo JP, Martin JFV, Ciorlia LA, Godoy MRP, Cordeiro JA, et al. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos em São José do Rio Preto. Arq Bras Cardiol. 2008;91(1):31-5.
7. Rosário TM, Scala LCNS, França GVA, Pereira MRG, Jardim PCBV. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. Arq Bras Cardiol. 2009;93(6):672-8.
8. Pereira M, Lunet N, Azevedo A, Barros H. Differences in prevalence awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. J Hypertens. 2009;27(5):963-75.
9. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. JAMA. 1996;273:1571-6.
10. Padwal R, Straus SE, McAlister FA. Cardiovascular risk factors and their impact on decision to treat hypertension: an evidence-based review. BMJ. 2001;322:977-80.
11. Psaty BM, Smith NL, Siscovick DS, Koepsell TD, Weiss NS, Heckbert SR, et al. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as firstline agents. A systematic review and metaanalysis. JAMA. 1977;277: 739-45.
12. Wright JM, Lee C-H, Chamber GK. Systematic review of antihypertensive therapies: does the evidence assist in choosing a first-line drug. CMAJ. 1999; 161:25-32.
13. SHEP-Cooperative Research Group. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension: final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). JAMA. 1991;265:3255-64.
14. The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcome in high-risk hypertensive patients to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). JAMA. 2002;288:2981-97.
15. Medical Research Council Working Party. MRC trial of treatment of hypertension: principal results. BMJ. 1985;291:97-104.
16. UK Prospective Diabetes Study Group. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes. UKPDS 39. BMJ. 1998;317:713-20.
17. Neal B, MacMahon S, Chapman N. Blood Pressure Lowering Trialists's Collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomized trials. Lancet. 2000;356:1955-64.
18. Hansson L, Lindholm, Niskanen L, Lanke J, Hedner T, Niklason A, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality on hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomized trial. Lancet. 1999;353: 611-6.
19. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-

- risk patients. *N Engl J Med.* 2000;342:145-53.
20. PROGRESS Collaborative Group. Randomized trial of a perindopril-based blood pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet.* 2001;35:1033-41.
 21. Hansson L, Lindholm LH, Ekborn T, Dahlöf B, Lanke J, Scherstén B, et al. Randomized trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity. The Swedish trial in old patients with hypertension-2 study. *Lancet.* 1999;354:1129-33.
 22. Dahlöf B, Devereux R, Kjeldsen S, Julius S, Beevers G, de Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the losartan intervention or endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. *Lancet.* 2002;359:995-1003.
 23. Lindholm LH, Ibsen H, Dahlöf B, Devereux RB, Beevers G, Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. *Lancet.* 2002;359:1004-10.
 24. Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, Brunner HR, Ekman S, Hansson L, et al. Outcomes in hypertensive patients in high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan and amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet.* 2004;363:2022-31.
 25. Julius S, Weber MA, Kjeldsen SE, McInnes GT, Zanchetti A, Brunner HR, The Valsartan Antihypertensive Long-Term Use Evaluation (VALUE) trial: outcomes in patients receiving monotherapy. *Hypertension.* 2006;48(3):385-91.
 26. Ogihara T, Nakao K, Fukui T. Effects of candesartan compared with amlodipine in hypertensive patients with high cardiovascular risks. Candesartan antihypertensive survival evaluation in Japan trial (CASE-J). *Hypertens.* 2008;51:1-6.
 27. Suzuki H, Kanno Y. Effects of candesartan on cardiovascular outcomes in Japanese hypertensive patients (E-COST). *Hypertens Res.* 2005;28(4):307-14.
 28. Telmisartan, Ramipril, or Both in Patients at High Risk for Vascular Events. The ONTARGET Investigators. *N Engl J Med.* 2008;358:1547-59.
 29. Stassen JA, Fagard R, Thijs L. Randomized double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. The Systolic hypertension in Europe (SYST-EUR). *Lancet.* 1997;350:757-64.
 30. Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, de Leeuw PW, Mancia G, Rosenthal T, et al. Morbidity and mortality in patients randomized to double-blind treatment with long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: intervention as a goal in hypertension treatment (INSIGHT). *Lancet.* 2000;356:366-72.
 31. Hansson L, Hedner T, Lund-Johansen P. Randomized trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and alpha-blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. *Lancet.* 2000;356:359-65.
 32. Pahor M, Psaty BM, Alderman MH, Applegate WB, Williamson JD, Cavazzini C, et al. Health outcomes associated with calcium antagonists compared with other first-line antihypertensive therapies: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lancet.* 2000;356:1949-54.
 33. Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, Wedel H, Beevers DG, Caulfield M, et al. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required *versus* atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;366:895-06.
 34. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ.* 2009;338:b1665.
 35. Calberg B, Samuelsson O, Lindholm LH. Atenolol in hypertension: is it a wise choice? *Lancet.* 2004;364:1684-9.
 36. Lindholm LH, Calberg B, Samuelsson O. Should β blocker remain a first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis. *Lancet.* 2005;366:1545-53.
 37. Bradley H, Wysong CS, Volmink JA, Mayosi BM, Opie LH. How strong is the evidence for the use of beta-blockers as first-line therapy for hypertension? Systematic review and

- metanalyses. *J Hypertens.* 2006;24: 2131-41.
38. Awan NA, Evenson MK, Needham KE, Win A, Mason DT. Efficacy of oral angiotensin-converting enzyme inhibition with Captopril therapy in severe chronic normotensive congestive heart failure. *Am Heart J.* 1981;101:21-31.
 39. Pecháňová O, Bernátová I, Pelouch V, Simko F. Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension: the effect of captopril. *J Mol Cell Cardiol.* 1997;29:3365-74.
 40. Simko F, Simko J. Heart Failure and angiotensin converting enzyme inhibitor: problems and perspectives. *Physiol Res.* 1999;48:1-8.
 41. Baumgarten CR, Linz W, Kunkel G, Schölkens BA, Wiemer G. Ramiprilat increases pradykinin outflow from isolated hearts of rat. *Br J Pharmacol.* 1993;108:293-5.
 42. Hartman JC. The role of bradykinin and nitric oxide in the cardioprotective action of ACE inhibitors. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:789-92.
 43. Lins W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Schölkens BA. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev.* 1995;47:25-49.
 44. Wiemer G, Schölkens BA, Becker RHA, Busse R. Pamiprilat enhances endothelial autacoid formation by inhibiting breakdown of endothelium-derived bradykinin. *Hypertens.* 1991;18:558-63.
 45. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews.* 1991;43:109-42.
 46. Gross SS. Nitric oxide synthases and their cofactors. In *Nitric oxide and the kidney: physiology and pathophysiology.* New York: Charman and Hall: 1997.
 47. Khan MT, Furchgott RF. Similarities of behaviour of nitric oxide (NO) and endothelium-derived relaxing factor (EDRF) in a perfusion cascade bioassay system. *Proc Fed Am Soc Exp Biol.* 1987;6:385.
 48. Lane P, Gross SS. Cell signaling by nitric oxide. *Semin Nephrol.* 1999;19(3):215-29.
 49. Brunini TMC, Perim N, Costa E, Mendes-Ribeiro AC. Óxido nítrico e pulmão. *Pulmão RJ.* 2006;15(3):184-90.
 50. Sander M, Victor RG. Neural mechanisms in nitric oxide-deficient hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1999;8:61-73.
 51. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertens.* 1994;23:1121-31.
 52. Li H, Wallerath T, Münzel T, Förstermann U. Regulation of endothelial-type NO synthase expression in pathophysiology and in response to drugs. *Nitric Oxide Biol Chem.* 2002;7:149-64.
 53. Brunini TMC, Resende AC, Moss MB, Soares de Moura R, Mendes-Ribeiro AC. L-arginine availability in essential hypertension, chronic renal and heart failure. *Vascular Disease Prevention.* 2005;2:37-51.
 54. Grollman A, Muirhead EE, Vanatta J. Role of the kidney in pathogenesis of hypertension as determined by a study of the effects of bilateral nephrectomy and other experimental procedures on the blood pressure of the dog. *Am J Physiol.* 1949;157:21-31.
 55. Ohta F, Takagi T, Sato H, Ignarro LJ. Low-dose L-arginine administration increases microperfusion of hindlimb muscle without affecting blood pressure in rats. *Proc Natl Acad Sci.* 2007;104(4):1407-11.
 56. Knopfholz J. The effect of L-arginine on neointimal proliferation and artery remodeling on an iliac artery lesion caused by a balloon catheter in hypercholesterolemic rabbits. *Arq Bras Cardiol.* 2006;87(4):520-4.
 57. Baracho NCV, Arruda GDS, Alves LJ, Carneiro MFS, Siqueira MTG, Arango HG, et al. Bioequivalence study of four different trademarks of enalapril maleate in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Acta Cir Bras.* 2008;23(2):173-8.
 58. Johns C, Gavras I, Handy DE, Salomao A, Gavras H. Models of experimental hypertension in mice. *Hypertens.* 1996 Dec;28(6):1064-9.
 59. Zatz RA. Low-cost tail-cuff method for estimation of mean arterial pressure in conscious rats. *Lab Anim Sci.* 1990;42:198-201.
 60. Sousa LLC. Ontogênese do remodelamento ventricular em ratos espontaneamente hipertensos. [dissertação] Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo; 2002.
 61. Moura Júnior MRD. Avaliação da pressão arterial por diferentes métodos em ratos desnutridos. XIII Seminário de Iniciação Científica da UFOP. Ouro Preto(MG): UFOP; 2005.
 62. Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional: testes paramétrico. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.253-72.

63. Gouvêa SA, Moysés MR, Bissoli NSi, Pires JGP, Cabral AM, Abreu GR. Oral administration of L-arginine decreases blood pressure and increases renal excretion of sodium and water in renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36:943-9.
64. Kristek F. Long-term administration of L-Arginine did not influence blood pressure, heart rate, cardiac hypertrophy or arterial wall thickness of spontaneously hypertensive rats. *Exp Physiol.* 1998;83:595-603.
65. Sanders PW, Chen PY, Gaston RS, Warnock DG. L-arginine and nitric oxide in the regulation of blood pressure. In: Laragh JH, Brenner BM (Editors). *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management.* 2nd ed. New York: Raven Press;1097-107.
66. Ohta F, Takagi T, Sato H, Ignarro LJ. Low-dose L-arginine administration increases microperfusion of hindlimb muscle without affecting blood pressure in rats. *PNAS.* 2007;104(4):1407-11.

Correspondência: Nilo César do Vale Baracho. - Faculdade de Medicina de Itajubá Av. Renó Júnior, 368. São Vicente Itajubá/MG. CEP: 37502-138. Tel: (35) 3629-8700. - E- mail: nilocvbaracho@yahoo.com.br