



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Andressa Betat

Impacto do colesterol plasmático sobre a cognição de ratos hipertensos

Florianópolis

2024

Andressa Betat

Impacto do colesterol plasmático sobre a cognição de ratos hipertensos

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciências Fisiológicas.

Orientador(a): Prof.^a, Dr.^a Renata M. Lataro

Florianópolis

2024

Betat, Andressa

Impacto do colesterol plasmático sobre a cognição de ratos hipertensos / Andressa Betat ; orientadora, Renata Maria Lataro, 2024.

68 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Fisiológicas. 2. Hipertensão . 3. Função cognitiva. 4. Hipercolesterolemia. 5. Memória. I. Lataro, Renata Maria. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas. III. Título.

Andressa Betat

Impacto do colesterol plasmático sobre a cognição de ratos hipertensos

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 06 de maio de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^ª, Dra. Cristiane Ribeiro de Carvalho
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof., Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas atribuído pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof., Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof^ª, Dra. Renata M. Lataro
Orientadora

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho aos meus pais, Adriana e Marcelo, por sempre apoiarem meus
sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por ter saúde para alcançar e realizar meus sonhos.

Agradeço imensamente aos meus pais, Adriana e Marcelo por sempre me apoiarem em meus sonhos e projeto, muitas vezes renunciando seus sonhos para que eu conseguisse realizar os meus. Obrigada por serem minha primeira e maior fonte de amor e sempre me incentivarem a estudar, sem vocês eu não teria conseguido.

Agradeço também à minha irmã, Marcella por ser minha companheira, na vida e nos estudos, obrigada por todo apoio que me deste.

À minha excelente orientadora, Professora Renata Lataro, por todos os conhecimentos obtidos com a senhora, por toda paciência, cuidado e dedicação. Muito obrigada por sempre me orientar em minha trajetória e por me acolher desde o início do mestrado.

Ao professor Guilherme Speretta e professora Cristiane Ribeiro, por aceitarem o convite para compor minha banca de defesa e por todas as contribuições com meu trabalho.

Agradeço às minhas avós Catarina e Marilu (in memoriam) as quais eram professoras e sempre me ensinaram sobre a importância de trabalhar com amor, vocês sempre serão minhas principais inspirações.

À minha família que sempre esteve presente em cada vitória assim como nos momentos difíceis, em especial aos meus primos Sabrina, Leonardo e Bernardo, obrigada por todo apoio sempre.

Aos meus amigos e companheiros do Laboratório CardioVasc, Ana Carolina, Ana Luiza, Deyse, Gabriel, Lais, Viviane, Willyan e Luma. Muito obrigada por todo o apoio de sempre, por todas as conversas e todos os momentos que vivemos juntos. Serei eternamente grata à vocês por toda a ajuda.

Aos médicos veterinários Luciana Honorato e ao Thiago Machado, por sempre estarem dispostos a ajudar e por todas as contribuições em meu projeto. Vocês ensinaram muito mais do que manejo dos animais, ensinaram a cuidar dos ratinhos com amor e carinho.

À professora Áurea Elisabeth Linder, professora Morgana Duarte da Silva, e professor Geison Souza Izídio por emprestarem equipamentos para os experimentos deste trabalho. Agradeço imensamente.

Ao Laboratório de Genética do Comportamento da UFSC, agradeço imensamente por gentilmente cederem os SHR para mim. Em especial ao Gabriel, que me auxiliou em meus experimentos. Muito obrigada.

Ao Gabriel Baracy por toda a ajuda com análises de colesterol e sempre que me auxiliou em meus experimentos.

À Universidade Federal de Santa Catarina, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas que são inspirações como professores e como defensores da ciência, obrigada por todas as aulas e contribuições com meu projeto.

À CAPES, pela concessão de minha bolsa de mestrado.

Às minhas queridas e amadas cachorrinhas Malu, Laila e Chloe e em especial à minha querida estrelinha Cindy, que partiu recentemente com seus 17 aninhos, muito obrigada pelo amor incondicional que recebo de vocês diariamente.

Por fim, a todos os ratinhos os quais me ensinaram diariamente a confiar e a nunca esquecer cada um que passou pelas minhas mãos durante os últimos dois anos.

You will do better if you make other people want to learn.

(Katherine Johnson)

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos ≥ 140 e/ou 90 mmHg. A HAS é o principal fator de risco para demência vascular e acidente vascular cerebral, por causar importantes mudanças cerebrovasculares, tornando assim o cérebro propenso a infartos, micro aneurismas e isquemias. Além disso, foi descrita uma associação positiva entre hipercolesterolemia e comprometimento cognitivo em humanos. No entanto, faltam estudos que avaliem de forma independente o papel da hipertensão e da hipercolesterolemia, ou sua associação, no comprometimento cognitivo. Entre os modelos animais utilizados para compreender o impacto da HAS, o rato espontaneamente hipertenso (SHR) é um modelo de hipertensão comumente empregado, pois apresenta aumentos progressivos na pressão arterial à medida que envelhecem, semelhante à HAS na idade adulta jovem em humanos. Assim, a hipótese do estudo foi de que a hipercolesterolemia seria capaz de causar prejuízos cognitivos em SHR, assim como a redução da pressão arterial produziria efeitos benéficos na cognição de SHR. Deste modo, o objetivo do estudo foi de avaliar os efeitos da dieta hiperlipídica (DH), a qual induz hipercolesterolemia, e do tratamento com captopril e anlodipino sobre a locomoção e memória dos ratos hipertensos. A locomoção, memória de reconhecimento, memória espacial de curta duração e a memória de trabalho dos ratos foram avaliadas por meio dos testes do campo aberto, teste de reconhecimento de novos objetos, teste do labirinto em T e teste do labirinto em Y. A hipercolesterolemia foi induzida por meio da dieta hiperlipídica. O protocolo experimental foi realizado com ratos das linhagens Wistar e SHR durante sete semanas e ao início e final do protocolo experimental os ratos foram submetidos aos testes de memória e a pletismografia de cauda, para registro da pressão arterial sistólica. A administração dos fármacos captopril (25mg/Kg/dia) e anlodipino (10mg/Kg/dia) foi realizada diariamente por meio de ingestão voluntária pelos ratos, juntamente com geleia de morango e água. Os SHR que receberam dieta padrão apresentaram maior pressão arterial, menor peso corporal e menor ingesta alimentar, permaneceram tempo maior no centro do aparato, sem demonstrar prejuízos na memória de longo prazo e memória de trabalho, comparados aos ratos WISTAR. Os ratos WISTAR que receberam a DH, em comparação aos ratos WISTAR que receberam dieta padrão, aumentaram seu peso, apresentaram maiores concentrações de colesterol total e de LDL, e menor concentração de HDL. Estes ratos percorreram uma menor distância no campo aberto, porém, não apresentaram prejuízo na memória de reconhecimento, memória espacial de curto prazo e memória de trabalho. Os SHR que receberam DH não tiveram alteração de peso corporal, porém, apresentaram aumento do colesterol total e LDL. No entanto, a hipercolesterolemia em SHR não alterou a distância percorrida no campo aberto ou a duração no centro do aparato e também não induziu prejuízo na memória de reconhecimento, memória espacial de curto prazo e memória de trabalho. Estes dados indicam que a HAS ou a hipercolesterolemia, ou a associação destes dois fatores, não produziu déficit de memória em ratos. Os SHR que receberam tratamento com anlodipino e captopril apresentaram diminuição da PAS comparados aos ratos que receberam veículo. Entretanto, nos testes de memória, os ratos que receberam fármacos não apresentaram diferença nos parâmetros avaliados. Desta forma, conclui-se que a administração de dieta hiperlipídica não causou prejuízos na memória dos ratos hipertensos e normotensos, assim como a utilização de captopril e anlodipino também não provocou alteração na memória dos SHR.

Palavras-chave: hipertensão, hipercolesterolemia, função cognitiva, memória.

ABSTRACT

Systemic arterial hypertension (SAH) is a multifactorial clinical condition characterized by an increase in blood pressure levels ≥ 140 and/or 90 mmHg. SAH is the main risk factor for vascular dementia and stroke, as it causes important cerebrovascular changes, thus making the brain prone to heart attacks, microaneurysms, and ischemia. Furthermore, an association between hypercholesterolemia and cognitive impairment in humans has been described. However, there is a lack of studies that independently evaluated the role of hypertension and hypercholesterolemia, or their association, on cognitive impairment. Among the animal models used to understand the impact of SAH, the spontaneously hypertensive rat (SHR) is a commonly used model of hypertension, as it presents progressive increases in blood pressure, similar to SAH in adulthood in humans. Thus, the hypothesis of the study was that hypercholesterolemia will cause cognitive impairment in SHR and that the reduction in blood pressure will produce beneficial effects on cognition in SHR. Therefore, the objective of the study was to evaluate the effects of hypercholesterolemia, and treatment with captopril and amlodipine on the locomotion and memory of hypertensive rats. The rats' locomotion, recognition memory, short-term spatial memory and work memory were assessed using the open field test, new object recognition test, T-maze test, and Y-maze test. Hypercholesterolemia was induced through a high-fat diet (HD). The experimental protocol was carried out with WISTAR RATS and SHR for seven weeks and at the beginning and end of the experimental protocol, the rats were subjected to memory tests and tail plethysmography, for arterial pressure recording. The administration of the drugs captopril (25mg/kg/day) and amlodipine (10mg/kg/day) was carried out daily through voluntary ingestion by the rats, associated with strawberry jelly and water. The SHR that received a standard diet had higher blood pressure, lower body weight, and lower food intake, remaining longer in the center of the apparatus in the open field, without demonstrating impairments in recognition memory, short-term spatial memory and working memory, compared to WISTAR rats. WISTAR rats that received HD, compared to WISTAR rats that received a standard diet, increased their weight, had higher concentrations of total cholesterol and LDL, lower concentrations of HDL. These rats covered a shorter distance in the open field, however, they did not show impairment in recognition memory, short-term spatial memory and working memory. The SHR who received HD did not change their body weight, however, they showed an increase in total and LDL cholesterol. Hypercholesterolemia in SHR did not change the distance covered in the open field or the duration in the center of the apparatus and also did not induce impairment in recognition memory, short-term spatial memory and working memory. These data indicate that hypertension or hypercholesterolemia, or the association of these two factors, did not produce memory deficits in rats. SHR that received treatment with amlodipine besylate, and captopril showed a decrease in SBP compared to rats that received vehicle. Nevertheless, in memory tests, the rats that received drugs showed no difference in the parameters evaluated. Therefore, it is concluded that the administration of a high-fat diet did not cause any damage to the memory of hypertensive and normotensive rats, likewise, the use of captopril and amlodipine did not cause changes in the memory of SHR.

Keywords: hypertension, hypercholesterolemia, cognitive function, memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Protocolo experimental dos grupos I a IV.....	24
Figura 2 – Protocolo experimental dos grupos V a VII	24
Figura 3 – Registro típico obtido por pletismografia de cauda.....	26
Figura 4 – Pressão Arterial Sistólica.....	32
Figura 5 – Peso corporal e ingesta alimentar	33
Figura 6 – Colesterol total, HDL, LDL e Triglicerídeos.....	35
Figura 7 – Teste campo aberto: duração no centro do aparato, duração na periferia do aparato e distância percorrida pelos ratos.....	36
Figura 8 – Teste de reconhecimento de novos objetos: índice de discriminação e tempo de exploração no teste de reconhecimento de novos objetos.....	38
Figura 9 – Teste do labirinto em T: número total de entradas nos braços do labirinto e taxa de alternância espontânea.....	39
Figura 10 – Teste do labirinto em Y: número total de entradas nos braços do labirinto e taxa de alternância espontânea.....	40
Figura 11 – Pressão arterial sistólica dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	41
Figura 12 – Peso corporal e ingesta alimentar dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	42
Figura 13 – Teste campo aberto: duração no centro do aparato, duração na periferia do aparato e distância percorrida pelos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	43
Figura 14 – Teste de reconhecimento do novo objeto: índice de discriminação e tempo de exploração no teste de reconhecimento de novos objetos dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	44
Figura 15 – Teste do labirinto em T: Número total de entradas nos braços do labirinto T e taxa de alternância espontânea dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	45
Figura 16 – Número total de entradas nos braços do labirinto em Y e taxa de alternância espontânea dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DH	Dieta Hiperlipídica
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidade
LDL	Lipoproteínas de Baixa Densidade
PAS	Pressão Arterial Sistólica
SHR	Ratos Espontaneamente Hipertensos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	ASPECTOS GERAIS.....	16
1.2	MODELO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL GENÉTICA (SHR).....	17
1.3	DECLÍNIO DA COGNIÇÃO E DEMÊNCIA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL .	18
1.4	TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.....	19
1.5	HIPERCOLESTEROLEMIA, DECLÍNIO COGNITIVO E HIPERTENSÃO ARTERIAL	20
2	HIPÓTESE.....	22
3	OBJETIVO GERAL	22
4	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4.1	AVALIAR OS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DA DH EM RATOS WISTAR E SHR SOBRE:.....	22
4.2	AVALIAR OS EFEITOS DA REDUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SOBRE A FUNÇÃO COGNITIVA DE SHR. DESTA FORMA, FORAM AVALIADOS OS EFEITOS DO TRATAMENTO DE SHR COM CAPTOPRIL E ANLODIPINO SOBRE:.....	22
5	MÉTODO	23
5.1	AMOSTRA.....	23
5.2	DESENHO EXPERIMENTAL.....	23
5.3	INTERVENÇÕES	25
5.3.1	Dieta hiperlipídica	25
5.3.2	Anti-hipertensivos.....	25
5.4	REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL.....	26
5.4.1	Registro indireto da pressão arterial	26
5.5	TESTES DE MEMÓRIA	27
5.5.1	Campo Aberto.....	27
5.5.2	Teste de reconhecimento de novos objetos	27
5.5.3	Labirinto em T	28
5.5.4	Labirinto em Y.....	29
5.6	ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	29
5.7	EUTANÁSIA	30
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
6	RESULTADOS	32

6.1	O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLÍPIDICA NÃO ALTEROU A PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA DOS RATOS WISTAR E SHR.....	32
6.2	O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLÍPIDICA AUMENTOU O PESO CORPORAL DOS RATOS WISTAR, ENTRETANTO, NÃO ALTEROU O PESO COPORAL DOS SHR.....	33
6.3	O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLÍPIDICA AUMENTOU O COLESTEROL TOTAL, LDL E HDL EM RATOS WISTAR E AUMENTOU O COLESTEROL TOTAL E LDL EM RATOS SHR, ENTRETANTO, NÃO HOUE AUMENTO DE TRIGLICERÍDEOS.	34
6.4	TESTE CAMPO ABERTO.....	36
6.5	TESTE DE RECONHECIMENTO DE NOVOS OBJETOS.....	37
6.6	TESTE DO LABIRINTO EM T	38
6.7	TESTE DO LABIRINTO EM Y	39
6.8	O TRATAMENTO COM CAPTOPRIL E ANLÓDIPINO DIMINUIU A PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA DOS RATOS SHR A PARTIR DA TERCEIRA SEMANA DE PROTOCOLO EXPERIMENTAL.	40
6.9	O TRATAMENTO COM ANLÓDIPINO E CAPTOPRIL NÃO ALTEROU O PESO CORPORAL E INGESTA ALIMENTAR DOS RATOS SHR.	41
6.10	TESTE CAMPO ABERTO.....	42
6.11	TESTE DE RECONHECIMENTO DE NOVOS OBJETOS.....	43
6.12	TESTE DO LABIRINTO EM T	44
6.13	TESTE DO LABIRINTO EM Y	45
7	DISCUSSÃO.....	47
8	CONCLUSÃO.....	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos ≥ 140 e/ou 90 mmHg. A HAS apresenta alta prevalência e baixas taxas de controle, sendo considerada um dos principais fatores de risco modificáveis e um dos mais importantes problemas de saúde pública (BARROSO et al., 2021). Mesmo com a grande variedade de tratamentos existentes, a HAS continua a ser a principal causa de morte cardíaca em todo o mundo, sendo responsável por 10,4 milhões de mortes por ano (UNGER et al., 2020).

A condição é um importante fator de risco para doenças cerebrovasculares, levando ao desenvolvimento da demência e déficits cognitivos (SASHIDA; FONTES; DRIUSSO, 2008). A HAS é o principal fator de risco para demência vascular e acidente vascular cerebral, por causar importantes mudanças cerebrovasculares, tornando assim o cérebro propenso a infartos, micro aneurismas e isquemias (TOMASSONI et al., 2004). No sistema nervoso central a HAS causa diminuição do volume cerebral, aumento no volume dos ventrículos e perda neuronal (TOMASSONI et al., 2004).

Evidências também apontam uma relação positiva entre hipercolesterolemia e o desenvolvimento de comprometimento cognitivo (YAQUB et al., 2022) (THIRUMANGALAKUDI et al., 2014). Estudos estabeleceram que o consumo de alimentos com alta densidade energética afeta as mitocôndrias, causando uma disfunção mitocondrial (AOUN et al., 2012; PUTTI et al., 2016). No cérebro, as mitocôndrias regulam a neurotransmissão que requer energia e a homeostase do cálcio, que são mecanismos fundamentais para a aprendizagem e memória (MOREIRA et al., 2007). Sendo assim, estudos mostram que a bioenergética mitocondrial nos tecidos centrais e periféricos é afetada negativamente pela dieta hiperlipídica em diferentes fases da vida, e esta perturbação metabólica está associada a deficiências cognitivas (DE PAULA et al., 2021; VILELA et al., 2023).

Além disso, é bem definido que a hipercolesterolemia contribui para a progressão da HAS (RÍOS, J.A. 2014). Segundo a Organização Mundial de Saúde e a British Heart Foundation, é estabelecido que níveis elevados de colesterol aumentam os riscos de doenças cardíacas (NAWATA, 2022). Considerando-se que pacientes hipertensos também podem apresentar aumento da concentração plasmática de colesterol, é provável que a hipercolesterolemia seja um fator responsável pelo comprometimento da cognição nestes pacientes.

1.2 MODELO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL GENÉTICA (SHR)

Os modelos de HAS em ratos podem ser divididos em modelos genéticos e induzidos. Dentro dos modelos genéticos, temos modelos monogênicos, como os congênitos (ou seja, com mutações em um fundo genético específico ou linhagem pura) e transgênicos (ou seja, geneticamente modificados, como linhagens *knockout*), bem como modelos poligênicos (JAMA et al., 2022).

A Linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) foi criada a partir da Linhagem de Ratos *Wistar Kyoto*. Estes animais desenvolvem HAS a partir da quinta semana de vida. Essa linhagem isogênica de ratos (indivíduos que apresentam o mesmo genoma entre si) foi desenvolvida a partir do cruzamento de ratos WISTAR selecionados com pressão arterial elevada (OKAMOTO KOZO; AOKI KYUZO, 1963).

O SHR é um modelo de HAS comumente empregado que apresenta aumentos progressivos na pressão arterial à medida que envelhecem, semelhante a HAS na idade adulta jovem em humanos (BAGBY; MCDONALD; MASS, 1979; ELY; TURNER; EH, 1990). A semelhança entre a HAS humana e a observada no SHR inclui a predisposição genética para hipertensão sem etiologia específica, aumento da resistência periférica total sem expansão de volume e resposta igual a tratamentos com fármacos (TRIPPODO; FROHLICH, 1981).

Além das manifestações no sistema nervoso central que a HAS provoca nos SHR, a HAS do SHR adulto está associada com um aumento da resistência periférica total e um débito cardíaco normal ou diminuído (POTTS; MCKEOWN; SHOUKAS, 1998). Com o desenvolvimento da HAS, SHR desenvolve uma progressiva hipertrofia cardíaca (FROHLICH, 1977). Os SHR também apresentam aumento na frequência cardíaca (DICKHOUT; LEE, 1998). Além disso, os SHR também apresentam comprometimento da memória (JOHNSON; MILLER; CIPOLLA, 2020).

O uso de ratos *Wistar Kyoto* como um controle confiável para os SHR é uma questão de debate, especialmente no que diz respeito às suas respostas comportamentais (TCHEKALAROVA et al., 2023). Autores descrevem o comportamento dos ratos *Wistar Kyoto* como um comportamento depressivo em comparação com outras linhagens (TCHEKALAROVA et al., 2023; WRIGHT; GILMOUR; DWYER, 2020). Assim, a diminuição da atividade motora de ratos *Wistar Kyoto* em comparação com ratos *Wistar* e SHR foi demonstrada por muitos pesquisadores, levando a interpretações equivocadas sobre os resultados de testes comportamentais como o teste do campo aberto o qual analisa a locomoção dos ratos (PARÉ, 1993; SAGVOLDEN; BIL~THEN; LARSEN, 1993). Sendo

assim, os ratos WISTAR podem ser utilizados como animais controles adequados para as análises comportamentais realizadas.

1.3 DECLÍNIO DA COGNIÇÃO E DEMÊNCIA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

A HAS é considerada fator de risco para diversas doenças, incluindo acidente vascular cerebral hemorrágico e isquêmico (WATTS et al., 2013). A pressão arterial crônica elevada leva a diversas alterações patológicas, incluindo hipertrofia das células musculares lisas, alterações na resistência arterial e modulação do equilíbrio hemodinâmico no tecido cerebral (RÍOS et al., 2014). Esses processos aumentam o risco de doença cerebrovascular através de um mecanismo envolvendo doença de pequenos vasos, isquemia, estresse oxidativo e inflamação (RÍOS et al., 2014).

Estudos recentes, realizados em humanos, mostram que a HAS compromete a integridade estrutural, a arquitetura da rede e a função da microcirculação cerebral envelhecida, promovendo diversos mecanismos de danos neurovasculares, os quais exacerbam o declínio cognitivo (UNGVARI et al., 2021). Um estudo de revisão sistemática com meta-análise mostrou que a HAS na meia-idade aumenta o risco relativo de demência ao longo da vida em 20 a 54% e o uso de terapia anti-hipertensiva está associado a uma redução mais modesta no risco de demência (HUGHES et al., 2020).

Os mecanismos de comprometimento cognitivo causado pela HAS incluem ativação excessiva do sistema renina-angiotensina-aldosterona, estresse oxidativo, disfunção endotelial, resposta inflamatória, aumento da variabilidade da pressão arterial, aumento da rigidez arterial, aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, deposição de β -amilóide, dano arteriolar da substância branca, atrofia cerebral, doença cerebral de pequenos vasos e angiopatia amilóide cerebral (UNGVARI et al., 2021). Além disso, a vasoconstrição induzida pela produção reduzida de óxido nítrico, um importante vasodilatador, agrava a disfunção endotelial, resultando em redução do fluxo sanguíneo cerebral e alterações na estabilidade da barreira hematoencefálica, causando danos isquêmicos à estrutura cerebral e comprometimento cognitivo (GULIAEV, 2019).

Além do comprometimento da memória, camundongos hipertensos também revelam déficits nos traços de memória rinocortical (memória de curto prazo), que podem ser atribuídos a alterações estruturais corticais, como, por exemplo, alterações no número e morfologia das espinhas dendríticas, alterações na substância branca ou hipoperfusão cerebral por causa de uma regulação do fluxo sanguíneo prejudicada (MEISSNER et al., 2017). O estudo de Johnson e colaboradores (2020), realizado com SHR e ratos WISTAR, mostra que

durante a HAS crônica, a diminuição do conteúdo de elastina é correlacionada com o aumento da rigidez da aorta, aumento da rigidez e remodelação das arteríolas do hipocampo, hipoperfusão do hipocampo e déficit de memória. Estudos clínicos sugerem que o enrijecimento aórtico influencia diretamente a cognição, incluindo a função de memória dependente do hipocampo através da disfunção cerebrovascular (JOHNSON; MILLER; CIPOLLA, 2020). Em estudos anteriores foi observado um desempenho inferior dos SHR em uma variedade de tarefas relacionadas à memória, incluindo evitação condicionada e tarefas de aprendizagem espacial motivadas por recompensas ou não (KNARDAHL; KARLSEN, 1984; SUTTERER; PERRY; DEVITO, 1980; TERRY et al., 2000).

Além dos mecanismos citados acima, pode-se relacionar HAS e declínio cognitivo ao sistema renina-angiotensina, o qual está hiperativado na HAS. Este sistema realiza a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico, bem como da resistência vascular periférica. Além de realizar a manutenção da homeostase, o sistema renina-angiotensina é um regulador essencial da pressão arterial (ATLAS, 2007). A superativação do sistema renina-angiotensina provou estar envolvida no desenvolvimento de múltiplas doenças cardiovasculares e distúrbios metabólicos, como HAS, insuficiência cardíaca, aterosclerose, obesidade e diabetes, muitos dos quais foram identificados como fatores de risco para comprometimento cognitivo (BOUSTANY et al, 2004). Quando ocorre a diminuição do fluxo sanguíneo renal, a renina é gerada pela hidrólise de seu precursor, a pró-renina, e então liberada diretamente na circulação. Na presença de renina, o angiotensinogênio é convertido em angiotensina I e posteriormente em Angiotensina-II pela ação da enzima conversora de angiotensina (BOUSTANY et al, 2004).

Estudos também demonstram que a Angiotensina-II prejudica o acoplamento neurovascular e a função cognitiva independentemente de sua resposta pressora, destacando o efeito deletério da superativação do sistema renina-angiotensina na memória (FARACO et al., 2016).

1.4 TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

O tratamento da HAS é composto por diversas medidas como mudança de hábitos de vida, alimentação saudável, prática de atividade física e uso de medicações. A forma inicial para tratamento da HAS é a mudança de comportamentos e após é realizado o tratamento com medicamentos para controle da HAS. As cinco principais classes de fármacos anti-hipertensivos são: diuréticos, bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores dos receptores da angiotensina II e beta

bloqueadores, estes fármacos demonstraram reduções significativas da pressão arterial comparadas com placebo, acompanhadas de diminuições consideráveis dos desfechos cardiovasculares fatais e não fatais, benefício relacionado fundamentalmente com a redução da pressão arterial (BARROSO et al., 2021).

A HAS tem sido reconhecida como uma importante condição que possui tratamento e assim, podendo prevenir ou retardar o aparecimento de déficits cognitivos relacionados com a demência (IADECOLA; GOTTESMAN, 2019). Em estudos randomizados e observacionais realizados, pesquisadores relatam que medicações anti-hipertensivas proporcionam um efeito protetor contra o declínio da cognição (MAZZARO et al., 2014). Revelando assim, que algumas classes de medicamentos anti-hipertensivos podem diminuir o risco de demência de forma mais eficaz do que outras (MAZZARO et al., 2014). Entretanto, autores relatam que a comparação direta entre diferentes classes de medicamentos anti-hipertensivos é escassa e o tempo de acompanhamento nesses estudos pode ter sido muito curto para detectar efeitos clínicos (NAESSENS et al., 2023a).

1.5 HIPERCOLESTEROLEMIA, DECLÍNIO COGNITIVO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

O colesterol é um componente importante das membranas celulares e é fundamental para a manutenção da estrutura e função da membrana (GOEDEKE, FERNANDEZ-HERNANDO, 2012). O cérebro tem cerca de 25% da quantidade total de colesterol do corpo, entretanto, pouco colesterol entra no cérebro derivado da dieta, e todo o colesterol acumulado no cérebro durante o período de rápida mielinização pode ser explicado por sua síntese local pelos astrócitos (PFRIEGER; UNGERER, 2011). No entanto, estudos mostram que pacientes que apresentaram colesterol sanguíneo aumentado apresentaram comprometimento cognitivo leve evoluindo para demência (LI et al., 2016).

Estudos experimentais e clínicos demonstraram uma correlação significativa entre níveis elevados de colesterol plasmático e comprometimento do relaxamento vascular dependente do endotélio (KAESEMEYER et al., 1999). Um comprometimento da complacência arterial periférica foi descrito em pacientes com níveis elevados de colesterol sérico e poderia contribuir para o aumento da pressão arterial (FUKUDA et al., 2023). O tratamento com fármacos para tratamento da hipercolesterolemia, ao reduzir os níveis séricos de colesterol, pode aumentar a complacência arterial, melhorando, assim, a capacidade vasodilatadora das grandes artérias (FUKUDA et al., 2023).

No cérebro, a HAS está associada a mudanças degenerativas de capilares intracerebrais e arteriais associadas a lesões na microvasculatura cerebral (DURON; HANON, 2008). Estas mudanças podem comprometer a função da barreira hematoencefálica, levando a um aumento da permeabilidade de proteínas no parênquima cerebral (DURON; HANON, 2008). O aumento do colesterol pode estimular o processamento da proteína precursora amiloide e aumentar a produção e agregação de peptídeo amiloide A β in vivo e in vitro (RUSHWORTH, HOOPER, 2011). Além disso, aumentos de peptídeo amiloide A β modulam o metabolismo neuronal do colesterol e estimulam a hiperfosforilação e acúmulo de proteína tau, o que desencadeia a neuropatologia da Doença de Alzheimer (SPARKS et al., 2011).

Desta forma, há evidências da existência de relação entre HAS, hipercolesterolemia e o comprometimento cognitivo. No entanto, o impacto da hipercolesterolemia sobre o déficit cognitivo associado à HAS ainda é um tema pouco estudado. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da HAS e hipercolesterolemia sobre a função cognitiva de ratos.

2 HIPÓTESE

- A hipercolesterolemia será capaz de causar prejuízos cognitivos em SHR.
- A redução da pressão arterial produzirá efeitos benéficos na cognição de SHR.

3 OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetivou investigar o papel de uma dieta hiperlipídica e HAS sobre a cognição de ratos hipertensos.

4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.1 AVALIAR OS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DA DH EM RATOS WISTAR E SHR SOBRE:

- locomoção e comportamento do tipo ansioso dos animais por meio do teste campo aberto;
- memória de reconhecimento dos animais por meio do teste de reconhecimento de novos objetos;
- memória espacial de curto prazo dos animais por meio do labirinto em T;
- memória de trabalho dos animais por meio do teste labirinto em Y.

4.2 AVALIAR OS EFEITOS DA REDUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SOBRE A FUNÇÃO COGNITIVA DE SHR. DESTA FORMA, FORAM AVALIADOS OS EFEITOS DO TRATAMENTO DE SHR COM CAPTOPRIL E ANLÓDIPINO SOBRE:

- locomoção e comportamento do tipo ansioso dos animais por meio do teste campo aberto;
- memória de reconhecimento dos animais por meio do teste de reconhecimento de novos objetos;
- memória espacial de curto prazo dos animais por meio do labirinto em T;
- memória de trabalho dos animais por meio do teste labirinto em Y.

5 MÉTODO

5.1 AMOSTRA

Foram utilizados ratos normotensos da linhagem Wistar com 16 semanas de idade provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e SHR com 16 semanas de idade, fornecidos pelo Laboratório de Genética Comportamental (Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC).

Os animais foram mantidos no Biotério do Centro de Ciências Biológicas em caixas plásticas padrão coletivas (50X30X10cm), três animais por caixa, com livre acesso a ração e água. Permaneceram em salas climatizadas (temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade de $50 \pm 10\%$), com ciclo claro escuro de doze horas.

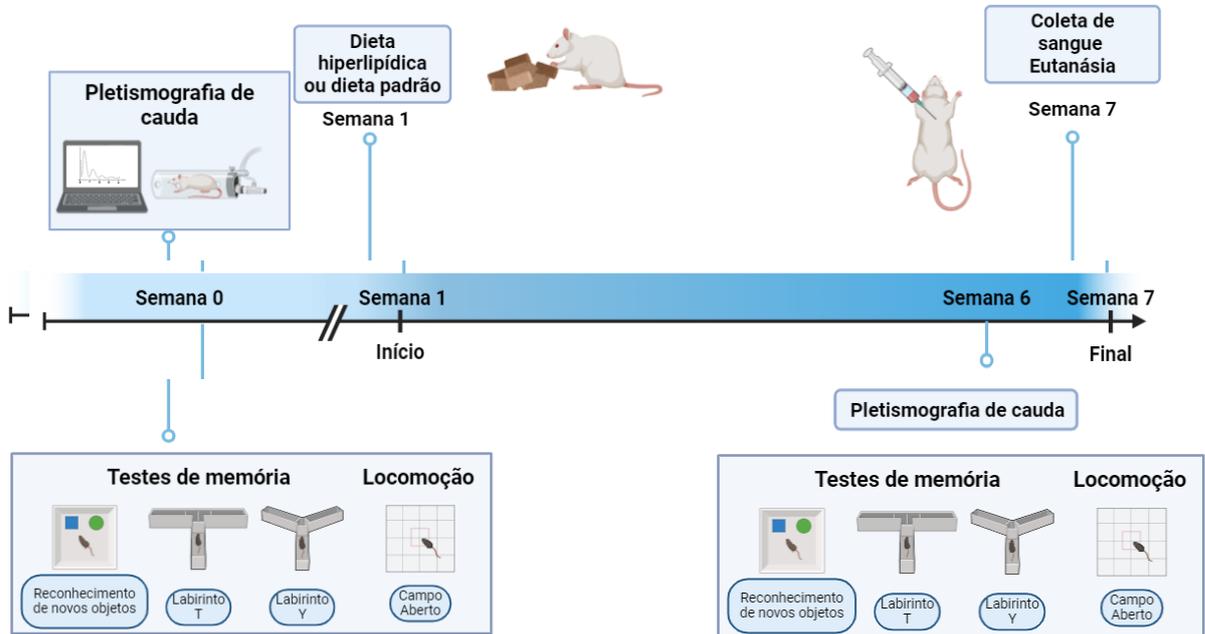
O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o protocolo nº 3064221121 (ANEXO A).

5.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O desenho experimental está ilustrado nas Figuras 1 e 2. Os animais foram divididos em 7 grupos: I) WISTAR + dieta padrão; II) SHR + dieta padrão; III) WISTAR +DH; IV) SHR + DH; V) SHR controle; VI) SHR + Tratamento com anlodipino e VII) SHR + Tratamento com captopril.

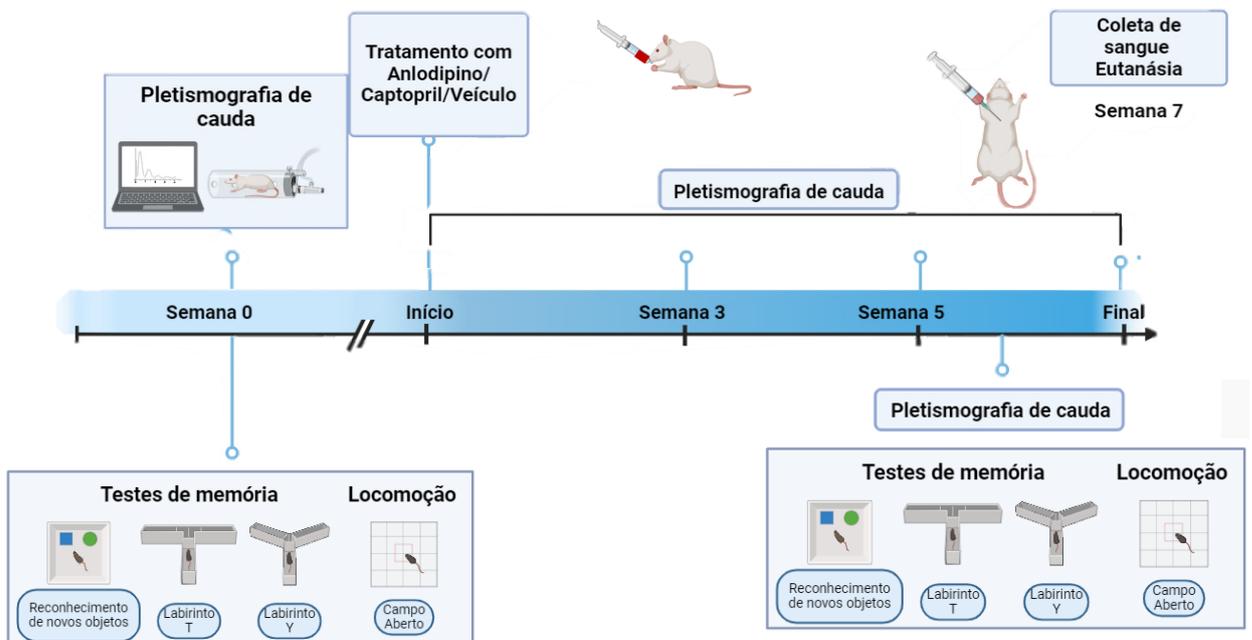
Os grupos I a IV receberam dieta padrão ou DH (balanceada padrão, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito de maisena, na proporção de 3:2:2:1) durante 7 semanas, conforme apresentado na Figura 1. Os animais dos grupos I a IV foram submetidos aos testes de memória e avaliação da pressão arterial no início e final do protocolo experimental, além da análise do colesterol plasmático. Os ratos dos grupos V a VII receberam dieta padrão e os grupos tratados receberam besilato de anlodipino (10mg/Kg) e captopril (25 mg/Kg) conforme representado na Figura 2. Os grupos VI e VII receberam os medicamentos anlodipino e captopril administrados diariamente, por meio de administração voluntária durante 7 semanas, e foram submetidos aos testes de memória e avaliação da pressão arterial, no início e final do protocolo experimental.

Figura 1 – Protocolo experimental dos grupos I a IV



Fonte: autoria própria. Criada com Biorender.com (2024).

Figura 2 – Protocolo experimental dos grupos V a VII



Fonte: autoria própria. Criada com Biorender.com (2024).

5.3 INTERVENÇÕES

5.3.1 Dieta hiperlipídica

A hipercolesterolemia foi induzida nos ratos por meio de dieta hiperlipídica (DH). A DH foi composta por ração balanceada padrão, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito de maisena, na proporção de 3:2:2:1, como descrito anteriormente (ESTADELLA et al., 2004; SPERETTA et al., 2012a). Todos os componentes da DH foram triturados, misturados e oferecidos aos ratos em forma de *pellets*. Essa dieta era composta por 20g de proteína (17,3% kcal), 20g de gordura total (40% kcal), 48g de carboidrato (41% kcal) e 4g de fibra (1,7% kcal) por cada 100g de dieta (ESTADELLA et al., 2004; SPERETTA et al., 2012a). Os ratos do grupo controle foram alimentados com dieta padrão. Dessa forma, os ratos receberam dieta padrão (controles) ou DH por sete semanas e seu peso e ingesta alimentar foram controlados semanalmente.

5.3.2 Anti-hipertensivos

Os SHR receberam tratamento com fármacos anti-hipertensivos, durante as sete semanas de protocolo experimental. As doses dos medicamentos foram definidas seguindo dados disponíveis na literatura. A dose administrada de captopril utilizada foi de 25 mg/kg/dia (TOMAZ DE CASTRO et al., 2021) e o besilato de anlodipino foi administrado na dosagem de 10 mg/kg/dia (DEL MAURO et al., 2020).

Os medicamentos anti-hipertensivos, anlodipino e captopril, foram administrados juntamente com geleia de morango (Sítio Palmará, Antônio Prado, Rio Grande do Sul, Brasil) misturada com água em uma seringa. Os ratos foram treinados a ingerir voluntariamente o conteúdo da seringa, conforme realizado previamente em nosso laboratório (ROBERTO et al., 2021; ALFLEN et al., 2023). Inicialmente foi realizada a aclimatação à seringa de 1 mL contendo 0,5 mL de água e 0,5 mL de geleia para os grupos controle e intervenção por sete dias. Após isso, para os animais que receberam besilato de anlodipino foi oferecido para cada animal individualmente 0,5 mL de geleia de morango + água + besilato de anlodipino em uma seringa de 1 mL de volume, diariamente, pelo período de sete semanas. Para os animais do grupo que recebeu o medicamento captopril, foi administrada sua dose diária fracionada em duas vezes ao dia, no turno manhã, no horário entre 9 e 12 horas da manhã e no período da tarde entre as 15 e 17 horas. Os animais receberam 0,25 mL de geleia de morango + água + captopril em cada administração. Os ratos do grupo controle receberam apenas a água e 0,5 mL de geleia de morango (veículo) durante as sete semanas do protocolo experimental.

5.4 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL

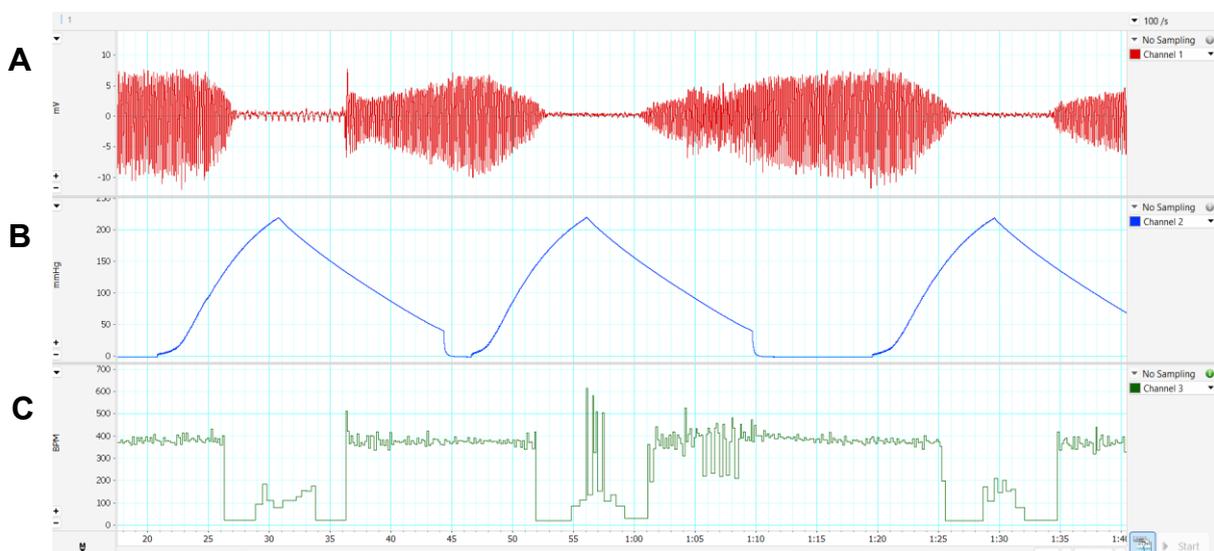
5.4.1 Registro indireto da pressão arterial

A Pressão Arterial Sistólica (PAS) dos ratos foi mensurada por meio do método de pletismografia de cauda, também conhecida como *tail-cuff plethysmography*. As medidas do pulso arterial da cauda dos ratos foram obtidas por um sensor fotoelétrico (Pletismógrafo Coda, Kent Scientific Corporation, Torrington, CO, USA).

Os ratos foram previamente aclimatados por dois dias consecutivos aos contensores e à sala de experimentos antes do procedimento do registro da pressão arterial. Para isso, os ratos permaneceram em uma antessala livre de ruídos por uma hora. Logo após, na sala de experimentação, os ratos foram aclimatados aos contensores e ao manguito de borracha, o qual foi encaixado na porção proximal da cauda dos ratos, em uma plataforma pré-aquecida por cinco minutos, a qual é fundamental para permitir a detecção do pulso arterial na cauda dos animais pelo pletismógrafo, após foram realizadas três ou mais medidas consecutivas da pressão arterial dos ratos.

No terceiro dia, os ratos foram submetidos à aclimação na antessala por uma hora, depois, na sala de experimentação, foram acomodados no contensor e o manguito de borracha foi encaixado na região proximal da cauda dos ratos e ligado ao esfigmomanômetro, o qual insufla e desinflat automaticamente em intervalos fixos de aproximadamente trinta segundos. Próximo ao manguito, um transdutor de pulso cilíndrico (sensor) conectado ao amplificador e conversor analógico digital (Kent Scientific, CODA- Torrington) registrou 3 ou mais medidas consecutivas da PAS dos ratos. A média dessas medidas foi calculada para a obtenção dos valores finais de PAS.

Figura 3 – Registro típico obtido por pletismografia de cauda.



Fonte: autoria própria (2024).

(A) Onda de pulso arterial da cauda (mV; em vermelho); (B) Registro de pressão (mmHg; em azul); (C) Registro da frequência cardíaca (bpm; em verde).

5.5 TESTES DE MEMÓRIA

5.5.1 Campo Aberto

O Campo Aberto foi desenvolvido por Hall (1934) para avaliar a locomoção e o comportamento do tipo ansioso em ratos. O aparato consiste em uma caixa de madeira quadrada (60 x 60cm), contendo uma arena em cinza cercada por paredes brancas, de 40 cm de altura. Os animais foram posicionados no centro do aparato e testados por cinco minutos. As sessões foram gravadas utilizando uma câmera digital acima do aparelho, posteriormente, analisaram-se os vídeos por meio do software ANY-maze® (Stoelting, USA). O centro foi virtualmente definido como uma área quadrada central de 10x10cm, e as áreas contíguas às paredes foi considerada a área periférica. Quantificamos a distância percorrida em toda a arena (em metros) e o tempo no centro e na periferia do campo aberto (em segundos). O teste foi realizado em todos os blocos experimentais, entre 08h00min e 12h00min. Ao retirar cada animal do teste, o aparato foi higienizado com álcool etílico hidratado 70° INPM.

5.5.2 Teste de reconhecimento de novos objetos

A tarefa de reconhecimento espontâneo de novos objetos foi realizada para avaliar a capacidade de um roedor de reconhecer um estímulo apresentado anteriormente (ENNACEUR; DELACOUR, 1988). Neste teste foi avaliada a memória de reconhecimento. A preferência pelo objeto novo, demonstrada por um aumento no tempo de exploração para aquele item, indica que um traço de memória para o objeto familiar foi devidamente codificado, consolidado e então recuperado para orientar o comportamento do roedor durante a sessão de teste (COHEN; STACKMAN, 2015a). O teste de reconhecimento de novos objetos é composto por três fases: habituação, amostragem e a fase de teste (PIRES et al., 2009).

O aparato experimental consiste em uma caixa de madeira quadrada (60 x 60cm), contendo uma arena em cor cinza cercada por paredes brancas, de 40cm de altura. O procedimento experimental consiste em três fases: habituação, amostragem e a fase de teste propriamente dita. A habituação foi composta por uma sessão com duração de 5 minutos, na qual o animal foi colocado no aparato para livre exploração. Vinte e quatro horas após o experimento de habituação, foi realizado um treinamento. No treinamento, os animais foram reexpostos ao campo aberto por cinco minutos, porém, nesta apresentação (treino) dois

objetos idênticos, dois cubos, foram apresentados aos animais. Os ratos foram colocados no centro do aparato com estes dois objetos idênticos por cinco minutos. Os objetos foram colocados a 7cm das paredes do campo aberto.

Após a fase de treinamento, os ratos foram removidos do aparato por 60 minutos. Passado o intervalo entre treino e teste, o objeto antigo (mesmo da sessão de treino) e um objeto novo, de outro formato (por exemplo, um cubo e uma esfera) foram introduzidos e a interação com os objetos foi novamente registrada por cinco minutos. O tempo gasto pelos animais explorando os objetos novos e antigos foi registrado durante os cinco minutos. Este tempo de exploração dos objetos foi utilizado para o cálculo do índice de discriminação de objetos, utilizado como parâmetro de memória (LEGER et al., 2013). Para minimizar a presença de pistas olfativas, os objetos foram cuidadosamente limpos com 10% de etanol após cada tentativa. Para analisar o desempenho cognitivo, foi calculado um índice de discriminação do novo objeto: $(T \text{ novo} - T \text{ antigo}) / (T \text{ novo} + T \text{ antigo})$, onde T novo é o tempo gasto explorando o objeto novo e T antigo é o tempo gasto explorando o objeto antigo.

O índice de discriminação varia de -1 a +1, com pontuações negativas indicando preferência pelo objeto familiar e pontuações positivas significando preferência pelo objeto novo (BROADBENT et al., 2010; QUILLFELDT, 2015).

As sessões foram gravadas utilizando uma câmera digital acima do aparelho e os parâmetros comportamentais foram registrados por um software de rastreamento de animais (Any-maze, Stoelting, EUA).

5.5.3 Labirinto em T

O labirinto em T é uma tarefa simples comumente usada em pesquisas de memória (PACKARD; MCGAUGH, 1996). Embora o labirinto tenha a forma de um sinal de mais, um braço é bloqueado para criar uma forma de T. O teste do labirinto em T foi utilizado para avaliar a memória espacial de curto prazo em roedores.

O teste de alternância forçada foi conduzido por meio de um labirinto simétrico de madeira preto. Cada braço do labirinto em T possuiu 30 cm de comprimento, 9 cm de largura e 12 cm de altura. Para reduzir o estresse dos animais, a luz na área de teste foi reduzida para 30 ± 5 lux. O teste consistiu em uma sessão de treinamento de 5 minutos (T1) seguido de uma sessão de teste de 5 minutos (T2). Em T1, os animais foram colocados no final do braço inicial, de frente para a parede e longe do centro, e tiveram a oportunidade de explorar dois braços do labirinto em T, enquanto a entrada no terceiro braço foi bloqueada. Após a sessão de treinamento, o animal retornou à sua gaiola por um intervalo de 30 minutos entre as

sessões. Em T2, o braço 3 foi liberado e os animais foram novamente colocados no braço inicial e, em seguida, foi permitido o acesso aos três braços do labirinto. O número de entradas (definido pela colocação das quatro patas em um braço) e o tempo gasto em cada braço foram registrados. O tempo no braço novo [%] foi definido como o tempo gasto no braço novo dividido pelo tempo gasto em todos os braços durante o teste T2. Alternância espontânea foi calculada com base na fórmula que leva em consideração o número de entradas nos três braços, dividido pelo número de alternâncias (o número total entradas nos braços - 2)/número de alternâncias $\times 100$ (DEACON, RAWLINS; 2006).

As sessões foram gravadas utilizando uma câmera digital acima do aparelho e os parâmetros comportamentais foram registrados e analisados por um software de rastreamento de animais (Any-maze, Stoelting, EUA).

5.5.4 Labirinto em Y

O teste de labirinto em Y é utilizado para avaliar a memória de trabalho ou operacional em roedores (DEACON & RAWLINS, 2006). O labirinto simétrico em Y, feito de madeira, possui três braços separados por 120 graus. Cada braço do labirinto em T utilizado tinha 30 cm de comprimento, 9 cm de largura e 12 cm de altura. Cada rato foi colocado no centro do labirinto Y e o animal foi liberado para explorar livremente o labirinto durante uma sessão de 8 minutos. A entrada no braço foi considerada quando as patas traseiras do rato foram completamente colocadas no braço. Desta forma, a sequência e o número total de entradas em cada braço do labirinto foram determinadas. Alternância espontânea foi calculada pela fórmula, descrita por Deacon (2006), que considera o número de entradas nos três braços, dividido pelo número de alternâncias (o número total entradas nos braços - 2)/número de alternâncias $\times 100$ (DEACON, RAWLINS; 2006).

As sessões foram gravadas utilizando uma câmera digital acima do aparelho e os parâmetros comportamentais foram registrados e analisados por um software de rastreamento de animais (Any-maze, Stoelting, EUA).

5.6 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Ao final do protocolo experimental, após os testes de memória, os animais dos grupos I) WISTAR + dieta padrão; II) SHR + dieta padrão; III) WISTAR + DH; IV) SHR + DH; foram privados de alimentos por seis horas e anestesiados com cetamina (90 mg/kg, i.p., União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, BR) e xilazina (10 mg/kg, i.p., Hertape Calier Saúde animal S/A, Juatuba, MG, BR) e a coleta de sangue por punção cardíaca

foi realizada para determinar os níveis plasmáticos de colesterol. O sangue foi centrifugado a 3.500 rpm e o soro congelado a -80°C . O Colesterol total, Lipoproteínas de alta densidade (HDL) e triglicerídeos foram analisados no soro usando-se kits enzimáticos de acordo com as instruções do fabricante (Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brasil).

Primeiramente, $5\mu\text{L}$ de amostra de soro foram transferidos para um microtubo contendo $500\mu\text{L}$ de reagente padrão de trabalho, conforme instruções do fabricante, totalizando três microtubos de solução (amostra + reagente). Após homogeneização da solução, $250\mu\text{L}$ de cada solução foram pipetadas em cada poço, em triplicata, em uma placa de leitura de 96 poços.

Para obtenção dos valores de colesterol e triglicerídeos do padrão e do branco, $250\mu\text{L}$ dos respectivos reagentes foram pipetados em cada poço, também em triplicata. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 10 minutos. A absorbância foi determinada a 500 nm por espectrofotometria (Multileitora Infinite M200, Tecan, Suíça) e, para o cálculo dos dados, foram utilizadas as fórmulas descritas abaixo. Os resultados foram expressos como mg/dL .

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram calculadas a partir da fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972), que se encontra descrita abaixo:

$$\text{Colesterol LDL} = \text{colesterol total} - \text{colesterol HDL} - \text{triglicerídeos} / 5$$

As demais concentrações de colesterol e triglicerídeos foram obtidas a partir dos seguintes cálculos:

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \text{absorbância da amostra} \times 200 / \text{absorbância do padrão}$$

$$\text{Triglicerídeos (mg/dL)} = \text{absorbância da amostra} \times 200 / \text{absorbância do padrão}$$

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = \text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do padrão} \times 4$$

5.7 EUTANÁSIA

A análise dos parâmetros de eutanásia humanitária teve como base o documento ENV/JM/MONO(2000)7 da OECD “GUIDANCE DOCUMENT ON THE RECOGNITION, ASSESSMENT, AND USE OF CLINICAL SIGNS AS HUMANE ENDPOINTS FOR EXPERIMENTAL ANIMALS USED IN SAFETY EVALUATION”. Ao final do protocolo experimental os animais foram anestesiados utilizando Cetamina (200 mg/kg , i.m.) e Xilazina (40 mg/kg , i.m.), após foi realizada coleta de sangue através de punção cardíaca, os animais

que permaneceram vivos após a coleta de sangue receberam overdose de anestésico para eutanásia.

É importante ressaltar que os animais foram monitorados diariamente, e a qualquer sinal de declínio da saúde e bem-estar de um animal, em qualquer momento dos procedimentos expostos no projeto, foi aplicado o ponto final humanitário, ou seja, eutanásia humanitária, no intuito de impedir um prolongamento do sofrimento ou que os animais sejam submetidos a algum sofrimento potencialmente identificado. Estes sinais de declínio da saúde e bem-estar de um animal incluem um ou mais dos seguintes itens:

- Deambulação prejudicada (e prolongada) impedindo o animal de alcançar água ou comida, ou anorexia prolongada;
- Excessiva perda de peso e/ou emagrecimento extremo e/ou desidratação severa;
- Significativa perda de sangue;
- Evidências que sugiram falência de órgão irreversível;
- Ausência prolongada de respostas voluntárias à estímulos externos;
- Dificuldade de respiração (persistente);
- Incapacidade de permanecer em pé (prolongada);
- Convulsões persistentes;
- Auto-mutilação;
- Diarréia prolongada;
- Redução significativa (e sustentada) na temperatura corporal;
- Tumores substanciais;

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

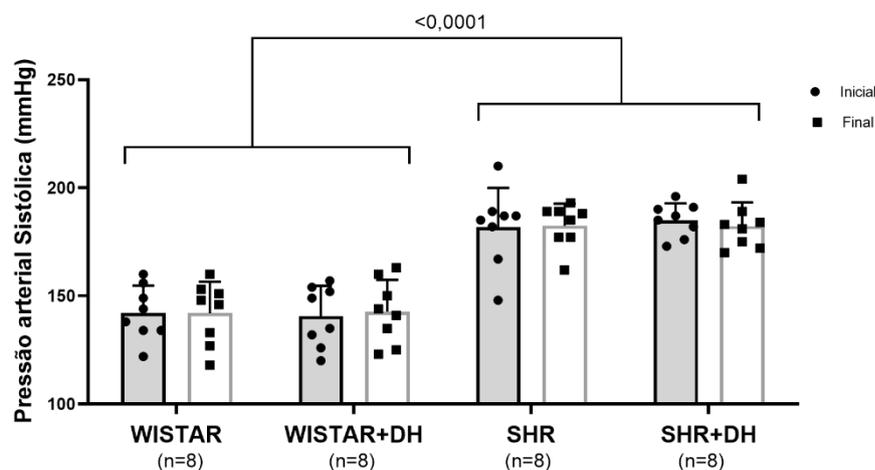
6 RESULTADOS

6.1 O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLÍPIDICA NÃO ALTEROU A PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA DOS RATOS WISTAR E SHR.

A PAS dos animais foi analisada na primeira e na última semana do protocolo experimental por meio de pletismografia de cauda. Os SHR apresentaram PAS maior que os animais WISTAR ($p < 0,0001$; FIGURA 4).

No entanto, o tratamento com a DH não alterou a pressão arterial sistólica dos ratos WISTAR ou SHR ao final do protocolo experimental. Além disso, a Figura 4 mostra que ratos de mesma linhagem iniciaram o protocolo experimental com valores semelhantes de pressão arterial.

Figura 4 – Pressão Arterial Sistólica



Fonte: Autoria própria (2024).

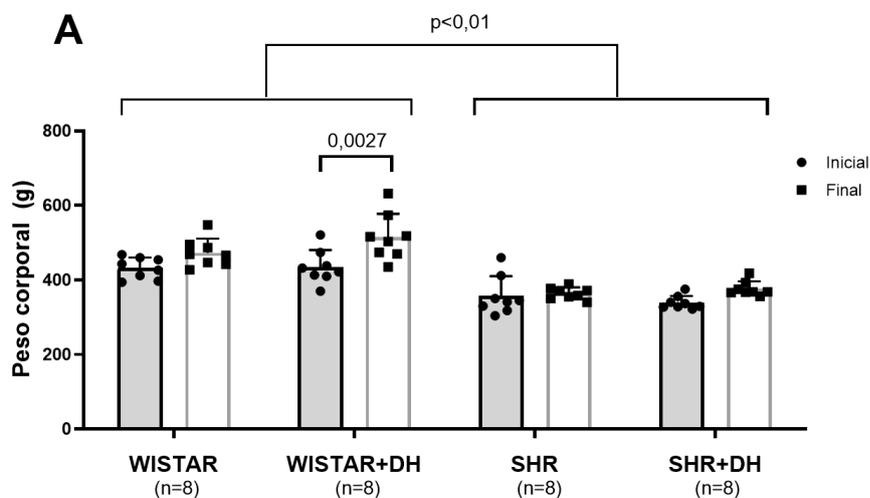
Figura 4. Pressão arterial sistólica dos ratos no início e final do protocolo experimental. A DH não alterou a PAS dos ratos WISTAR ou SHR. Os ratos WISTAR apresentaram maior PAS comparados aos SHR. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com os testes ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

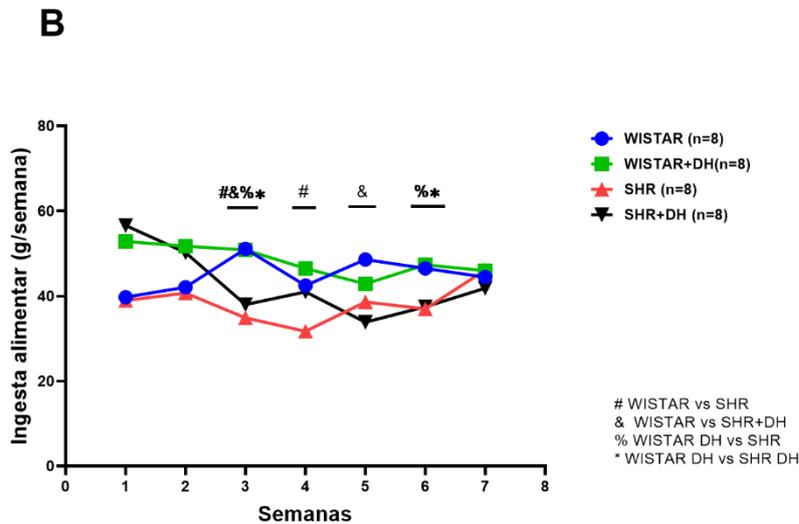
6.2 O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLIPÍDICA AUMENTOU O PESO CORPORAL DOS RATOS WISTAR, ENTRETANTO, NÃO ALTEROU O PESO CORPORAL DOS SHR

Os valores de peso corporal e a ingesta alimentar dos animais foram analisados semanalmente durante o protocolo experimental; estes dados são apresentados na FIGURA 5. Os ratos WISTAR apresentaram maior peso corporal comparados aos ratos dos grupos SHR ($p < 0,2$; FIGURA 5A). A DH induziu ganho de peso nos ratos WISTAR ($p = 0,0027$; FIGURA 5A), entretanto, não causou ganho de peso nos SHR ($p = 0,5433$; FIGURA 5A).

Na terceira e quinta semana os ratos WISTAR que receberam dieta padrão apresentaram maior ingesta alimentar comparados aos SHR que receberam DH ($p < 0,02$; FIGURA 5B). Na terceira e na sexta semanas de protocolo experimental os ratos WISTAR que receberam DH apresentaram maior ingesta alimentar comparados aos ratos do grupo SHR que recebeu dieta padrão ($p = 0,001$; FIGURA 5B). Na terceira e na sexta semana os ratos WISTAR que receberam DH ingeriram mais alimento que os SHR que receberam DH ($p < 0,04$; FIGURA 5B). Na terceira e na quarta semanas os ratos WISTAR que receberam dieta padrão apresentaram maior ingesta alimentar que os SHR que receberam dieta padrão ($p < 0,004$; FIGURA 5B).

Figura 5 – Peso corporal e ingesta alimentar





Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 5. (A) Peso corporal. Observa-se que os ratos WISTAR apresentaram maior peso corporal que os animais SHR. Além disso, os animais WISTAR que receberam DH apresentaram maior peso corporal ao final do protocolo experimental. (B) Ingesta alimentar. Na terceira e na sexta semanas de protocolo experimental os ratos WISTAR DH apresentaram maior ingestão alimentar comparados ao grupo SHR que recebeu dieta padrão. Na terceira e quinta semana os ratos WISTAR apresentaram maior ingestão alimentar comparados aos SHR que receberam DH. Na terceira e na sexta semana os ratos WISTAR que receberam DH ingeriram mais alimento que os SHR que receberam DH. Na terceira e na sexta semanas os ratos WISTAR apresentaram maior ingestão alimentar que os SHR que receberam dieta padrão. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

6.3 O TRATAMENTO COM DIETA HIPERLIPÍDICA AUMENTOU O COLESTEROL TOTAL, LDL E HDL EM RATOS WISTAR E AUMENTOU O COLESTEROL TOTAL E LDL EM RATOS SHR, ENTRETANTO, NÃO HOUVE AUMENTO DE TRIGLICERÍDEOS.

Os valores de colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos dos ratos foram analisados no final do protocolo experimental, a partir do soro coletado do sangue dos animais; estes dados estão apresentados na FIGURA 6.

Os ratos WISTAR que receberam DH apresentaram maiores taxas de colesterol total comparados aos ratos que receberam dieta padrão ($p=0,0001$; FIGURA 6A). Além disso, os SHR que receberam DH também apresentaram maiores concentrações de colesterol total comparados aos SHR que receberam dieta padrão ($p=0,0367$; FIGURA 6A).

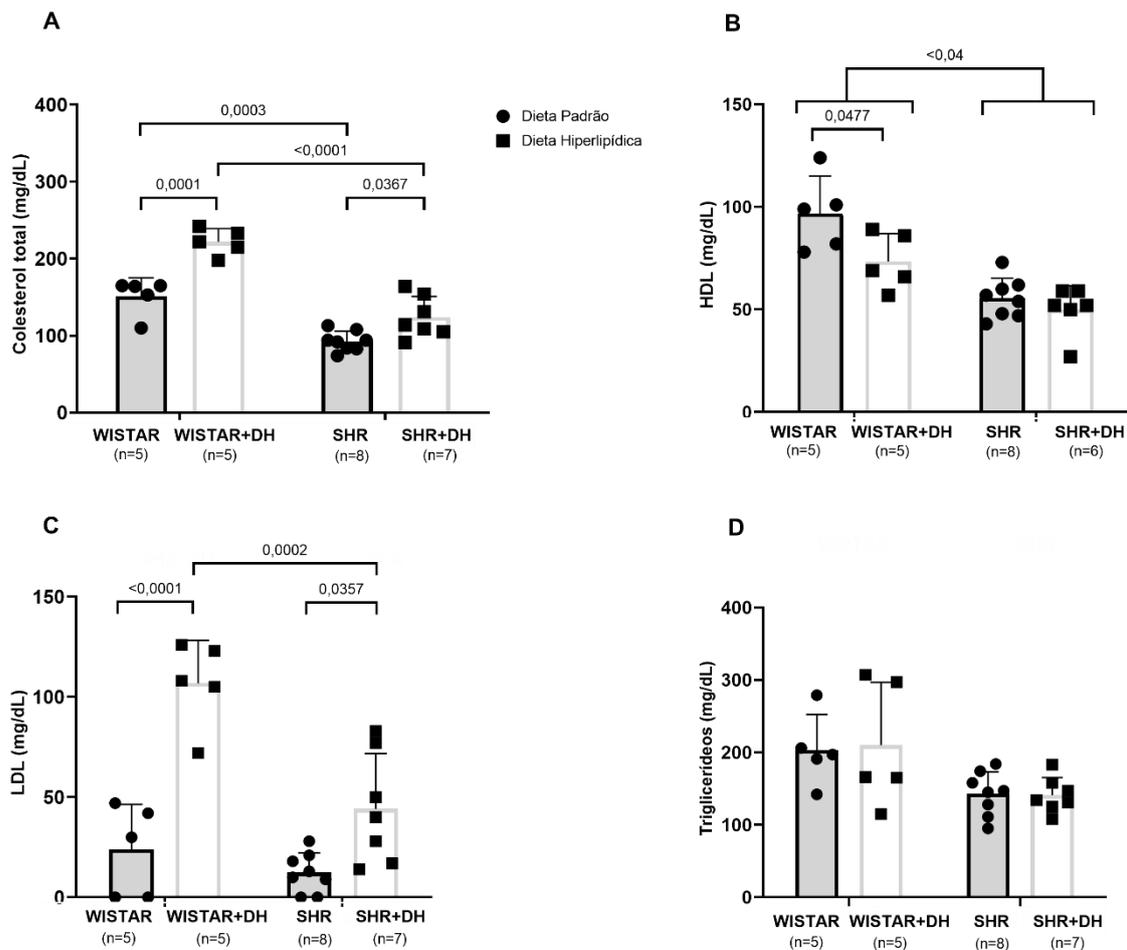
Os ratos WISTAR que receberam dieta padrão apresentaram maiores concentrações de colesterol total que os SHR que também receberam dieta padrão ($p=0,0003$; FIGURA 6A). Entre os ratos que receberam DH, os ratos WISTAR apresentaram maiores concentrações de colesterol total comparados aos SHR ($p < 0,0001$; FIGURA 6A).

Na Figura 6B podemos observar a concentração de HDL. Os ratos WISTAR que receberam DH ou dieta padrão apresentaram concentração de HDL maiores comparados aos SHR que receberam dieta padrão ou DH ($p < 0,04$; FIGURA 6B). Os ratos WISTAR que receberam DH apresentaram menores concentrações de HDL quando comparados aos ratos que recebem dieta padrão ($p = 0,0477$; FIGURA 6B).

A Figura 6C mostra que a concentração de LDL dos ratos WISTAR que receberam DH foi superior a concentração de LDL dos ratos que receberam dieta padrão ($p < 0,0001$; FIGURA 6C). Os SHR que receberam DH também apresentaram maiores concentrações de LDL comparados aos ratos que receberam dieta padrão ($p = 0,0357$; FIGURA 6C).

A DH não alterou a concentração de triglicerídeos nas linhagens WISTAR e SHR (FIGURA 6D).

Figura 6 – Colesterol total, HDL, LDL e Triglicerídeos



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 6. (A) Colesterol total. Observa-se que os ratos WISTAR e SHR que receberam DH apresentaram maior concentração de colesterol total que os ratos que receberam dieta padrão. (B) HDL. Os ratos WISTAR que

receberam DH ou dieta padrão apresentaram maior concentração de HDL comparados aos animais SHR que receberam DH ou dieta padrão. Além disso, os animais WISTAR que receberam DH apresentaram menor HDL comparados aos ratos WISTAR que receberam dieta padrão. (C) LDL. Os ratos WISTAR ou SHR que receberam DH apresentaram maiores concentrações de LDL comparados aos ratos que receberam dieta padrão. (D) Triglicerídeos. A DH não alterou a concentração de triglicerídeos dos animais. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

6.4 TESTE CAMPO ABERTO

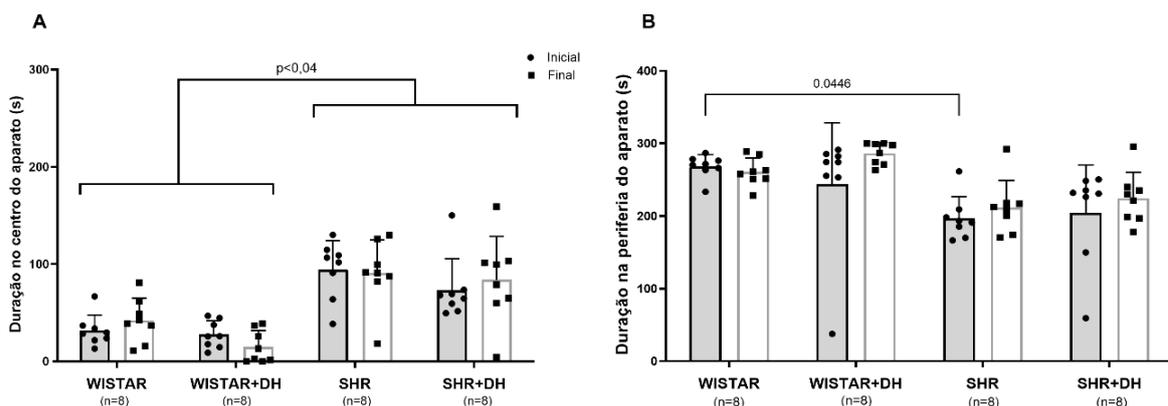
O teste campo aberto foi realizado na semana anterior ao início do protocolo experimental e na semana que antecedia o final do protocolo experimental com o objetivo de avaliar a locomoção e o comportamento do tipo ansioso dos animais, estes dados estão representados na FIGURA 7.

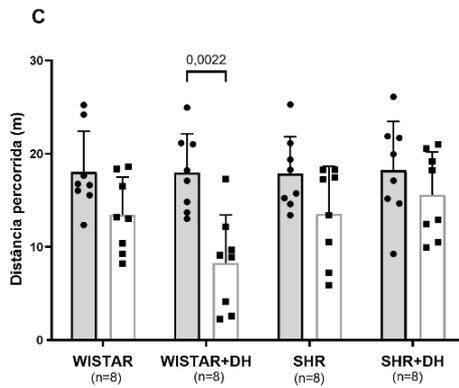
Os SHR que receberam DH ou dieta padrão permaneceram um tempo maior no centro do aparato comparados aos ratos WISTAR que receberam DH ou dieta padrão no início e no final do protocolo experimental ($p < 0,04$; FIGURA 7A). A DH não alterou o tempo que os ratos WISTAR ou SHR permaneceram no centro do aparato no teste campo aberto.

Na figura 7B podemos observar que os SHR que receberam a dieta padrão permaneceram menor tempo na periferia do aparato no início do protocolo experimental, comparados aos ratos WISTAR ($p = 0,0446$; FIGURA 7B). A DH não alterou o tempo que os ratos WISTAR ou SHR permaneceram na periferia do aparato.

A distância percorrida pelos animais pode ser observada na figura 7C. No final do protocolo experimental, os ratos WISTAR que receberam DH percorreram uma menor distância no aparato durante o teste comparados aos ratos WISTAR que receberam dieta padrão ($p = 0,00022$; FIGURA 7C).

Figura 7 – Teste campo aberto: duração no centro do aparato, duração na periferia do aparato e distância percorrida pelos ratos





Fonte: Autoria própria (2024).

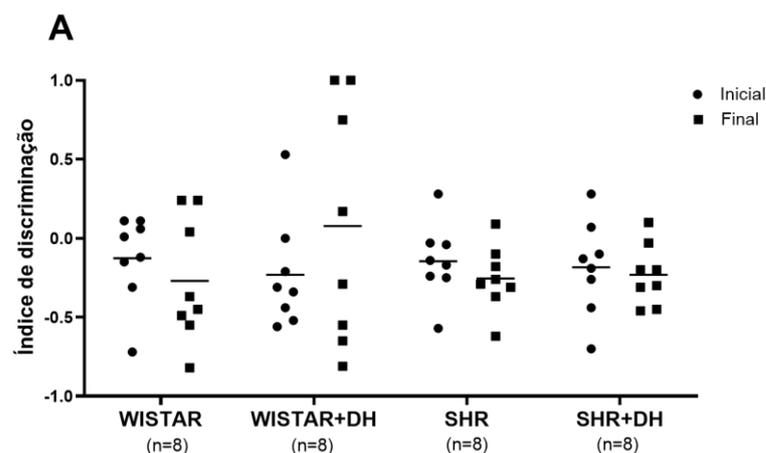
Figura 7. (A) Duração no centro do aparato. Os SHR permaneceram maior tempo no centro do aparato comparados aos ratos WISTAR. No entanto, não houve influência daDH. (B) Duração na periferia do aparato. Os fatores linhagem e DH não alteraram a duração que os ratos permaneceram na periferia do aparato. (C) Distância percorrida. A DH reduziu a distância percorrida pelos ratos WISTAR no final do protocolo, porém, não influenciou este parâmetro nos SHR. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

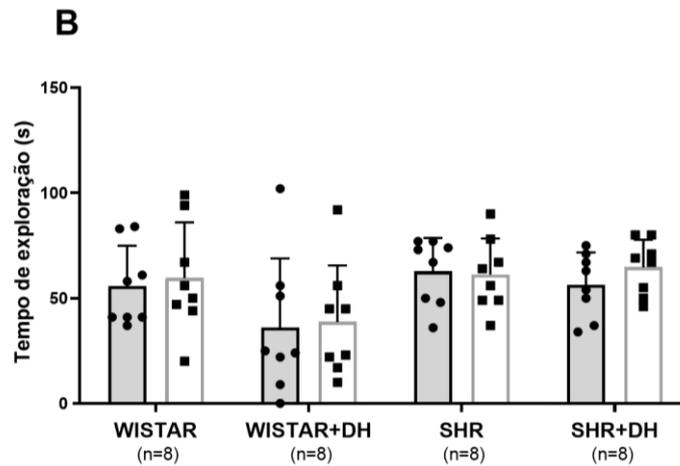
6.5 TESTE DE RECONHECIMENTO DE NOVOS OBJETOS

O teste de reconhecimento de novos objetos foi realizado na semana que antecedia o início do protocolo experimental e durante a semana que antecedia o final do protocolo experimental, os parâmetros analisados estão apresentados na FIGURA 8.

Na figura 8A podemos observar o índice de discriminação do novo objeto. Não houve diferença entre as linhagens neste parâmetro. A DH não alterou este parâmetro em ratos WISTAR e SHR. O tempo de exploração dos objetos, encontrado na figura 8B, também não apresentou diferença entre as linhagens ou entre os animais que receberam dieta padrão ou DH.

Figura 8 – Teste de reconhecimento de novos objetos: índice de discriminação e tempo de exploração no teste de reconhecimento de novos objetos





Fonte: Autoria própria (2024).

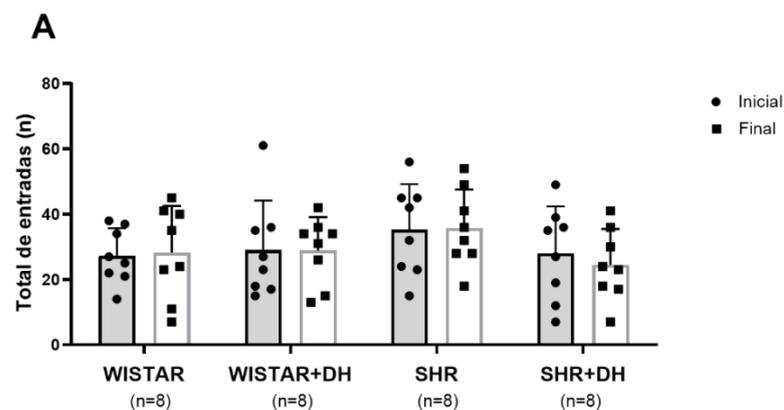
Figura 8. (A) Índice de discriminação. Os fatores linhagem e DH não alteraram este parâmetro em ratos WISTAR e SHR. (B) Tempo de exploração dos objetos. A DH não alterou o tempo de exploração dos objetos pelos ratos; também não houve diferença entre as linhagens. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

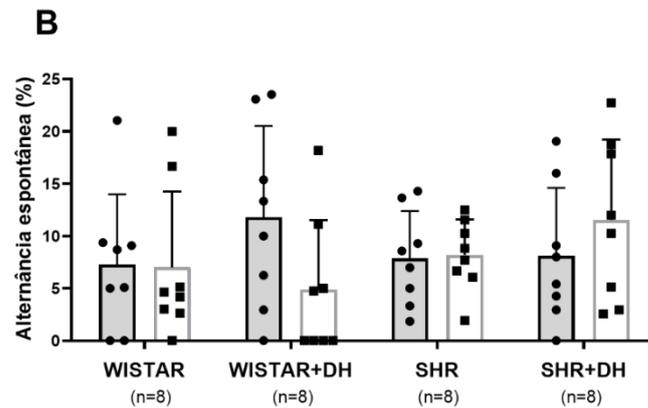
6.6 TESTE DO LABIRINTO EM T

O teste do labirinto em T foi realizado na semana que antecedeu o início do protocolo experimental e na semana que antecedeu o final do protocolo experimental, os dados encontram-se na FIGURA 9.

Não houve diferença entre os grupos de animais WISTAR e SHR que receberam ou não DH nos parâmetros de alternância espontânea e número total de entradas nos braços do labirinto.

Figura 9 – Teste do labirinto em T: número total de entradas nos braços do labirinto e taxa de alternância espontânea





Fonte: Autoria própria (2024).

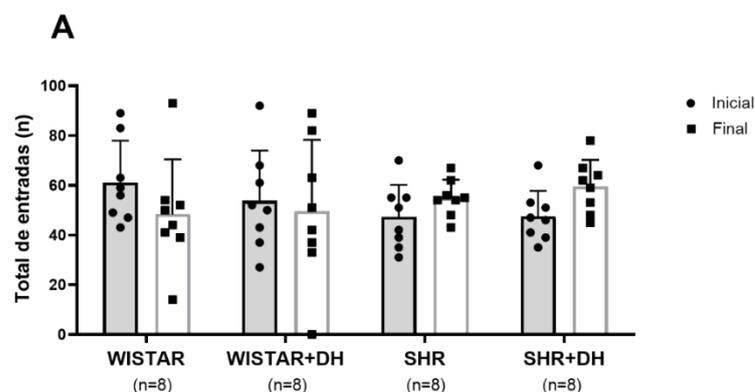
Figura 9. (A) Número total de entradas. (B) Taxa de alternância espontânea. Os fatores linhagem e DH não alteraram estes parâmetros. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

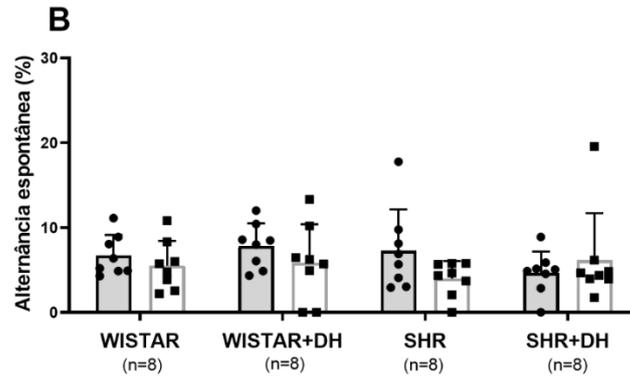
6.7 TESTE DO LABIRINTO EM Y

O teste do labirinto em Y foi realizado na semana que antecedeu o início do protocolo experimental e na semana que antecedeu o final do protocolo experimental, os dados encontram-se na FIGURA 10.

Observa-se que não houve diferença entre as linhagens de ratos (FIGURA 10). A DH não alterou o número total de entradas pelos animais nos braços do labirinto em Y, conforme representado na figura 10A. Na figura 10B está representada a taxa de alternância espontânea, a qual também não foi alterada pela DH.

Figura 10 – Teste do labirinto em Y: número total de entradas nos braços do labirinto e taxa de alternância espontânea





Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 10. (A) Número total de entradas. (B) Taxa de alternância espontânea. Não houve diferença entre as linhagens. A DH não alterou o número total de entradas ou a taxa de alternância espontânea dos ratos WISTAR e SHR. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. SHR: Rato espontaneamente hipertenso; DH: Dieta Hiperlipídica.

6.8 O TRATAMENTO COM CAPTOPRIL E ANLODIPINO DIMINUIU A PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA DOS RATOS SHR A PARTIR DA TERCEIRA SEMANA DE PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Nos grupos experimentais IV a VIII, ou seja, SHR tratado com veículo (controle), SHR tratado com anlodipino e SHR tratado com captopril, a pressão arterial sistólica dos ratos foi analisada na primeira semana de protocolo experimental, ou seja, antes do tratamento, e a cada duas semanas até a finalização do protocolo experimental. Os dados referentes a pressão arterial sistólica encontram-se na FIGURA 11.

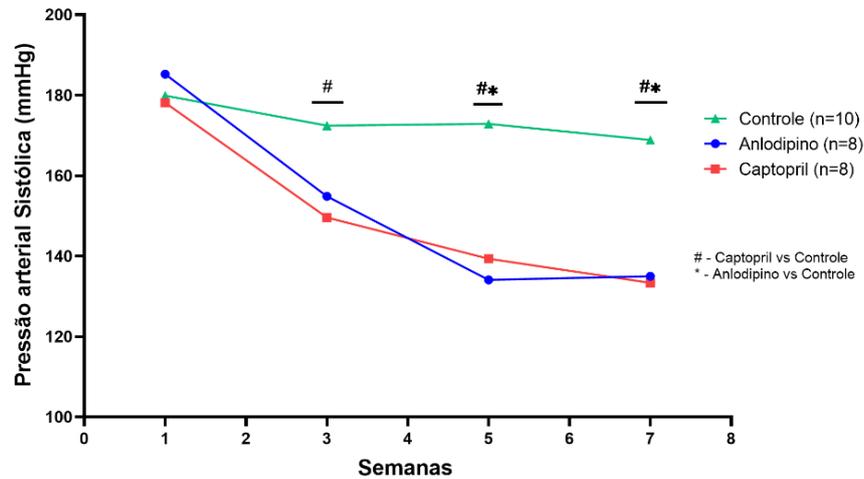
Na quinta semana de protocolo experimental os SHR tratados com captopril ($p < 0,0001$; FIGURA 11) ou anlodipino também apresentaram PAS menor que os animais do grupo controle ($p < 0,0001$; FIGURA 11).

Na quinta semana de protocolo experimental os SHR tratados com captopril também apresentaram valores menores de PAS comparados aos ratos do grupo controle ($p < 0,0001$; FIGURA 11), os animais que foram tratados com anlodipino também apresentaram PAS menor que os animais do grupo controle ($p < 0,0001$; FIGURA 11).

Os ratos que receberam captopril também apresentaram menores valores de PAS comparados aos ratos controles na sétima semana de tratamento ($p < 0,0001$; FIGURA 11), assim como os ratos que receberam anlodipino ($p < 0,0001$; FIGURA 11).

Não houve diferença entre os valores de PAS entre os grupos que receberam captopril ou anlodipino durante o protocolo experimental.

Figura 11 – Pressão arterial sistólica dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

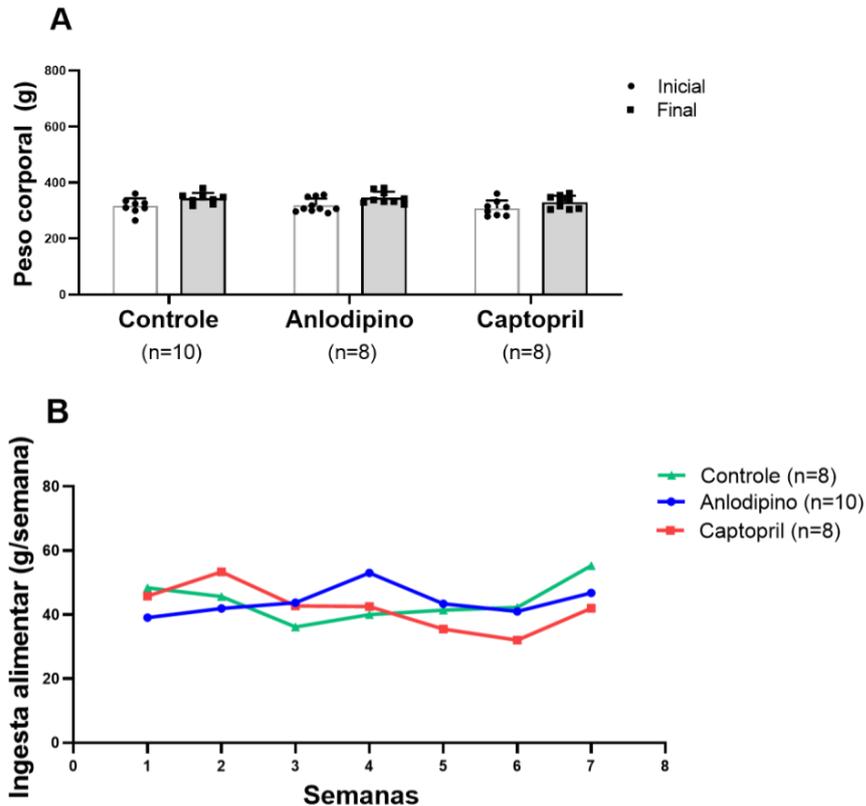
Figura 11. Pressão Arterial Sistólica. Na terceira semana de protocolo os ratos que receberam captopril apresentaram PAS menor que os ratos do grupo controle. Na quinta e na sétima semana os ratos dos grupos que receberam captopril ou anlodipino apresentaram menor PAS comparados ao grupo controle. Não houve diferença entre os grupos que receberam medicamentos diferentes. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6.9 O TRATAMENTO COM ANLODIPINO E CAPTOPRIL NÃO ALTEROU O PESO CORPORAL E INGESTA ALIMENTAR DOS RATOS SHR.

O peso corporal e a ingesta alimentar dos animais foram analisados semanalmente durante o protocolo experimental. O peso corporal dos ratos pode ser analisado na Figura 12A. O tratamento com anlodipino ou captopril não alterou o peso corporal dos ratos no final do protocolo experimental. Além disso, também não houve diferença entre os ratos que receberam anlodipino e captopril e os ratos do grupo controle.

A figura 12B mostra a ingesta alimentar dos ratos durante o protocolo experimental. Não houve diferença entre os ratos que receberam tratamento comparados aos ratos do grupo controle.

Figura 12 –Peso corporal e ingesta alimentar dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

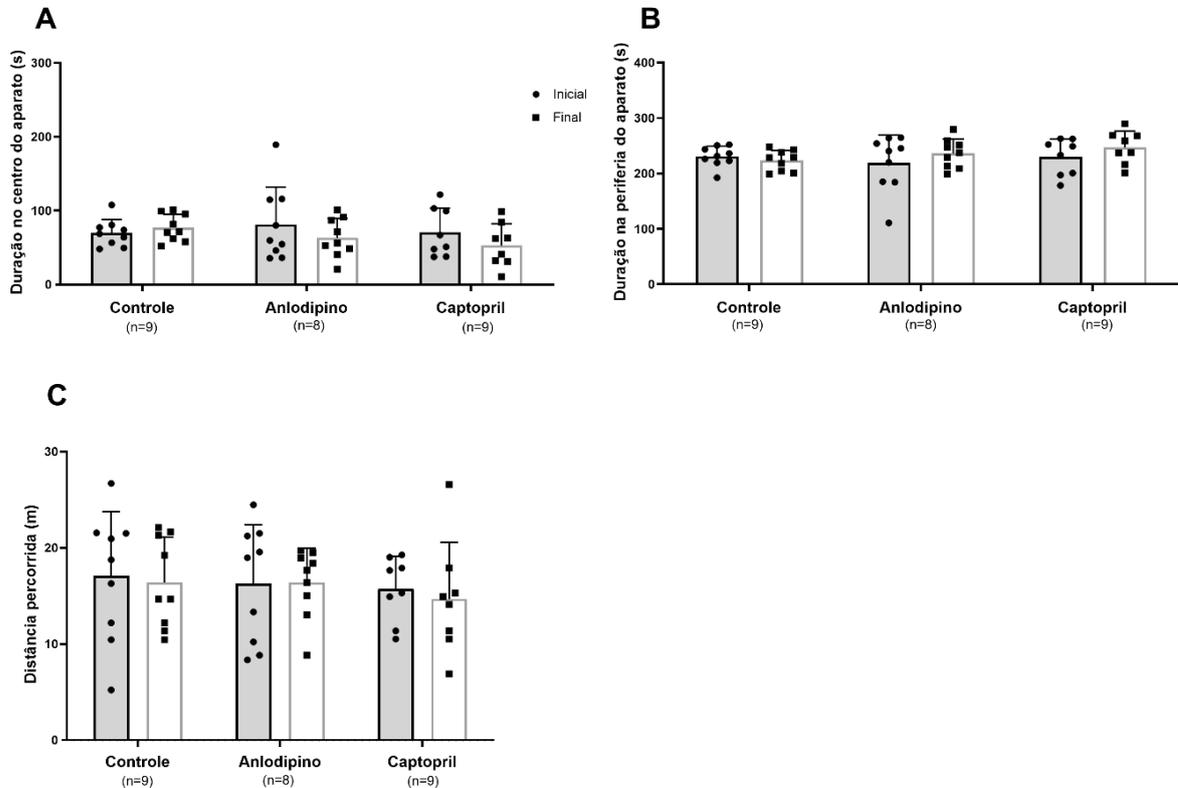
Figura 12. (A) Peso corporal. O tratamento com anlodipino ou captopril não alterou o peso corporal dos SHR comparados aos ratos do grupo controle. (B) Ingesta alimentar. Este parâmetro também não sofreu alteração nos grupos que receberam tratamento. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6.10 TESTE CAMPO ABERTO

O teste campo aberto foi realizado na semana anterior ao início do protocolo experimental e ao final do protocolo experimental, na sexta semana de protocolo. Os dados referentes ao tempo de duração no centro e na periferia e distância percorrida no aparato estão dispostos na FIGURA 13.

Não houve diferença entre os grupos de ratos que receberam captopril ou anlodipino nos parâmetros de tempo de duração no centro, tempo de duração na periferia e distância percorrida no campo aberto.

Figura 13 – Teste campo aberto: duração no centro do aparato, duração na periferia do aparato e distância percorrida pelos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

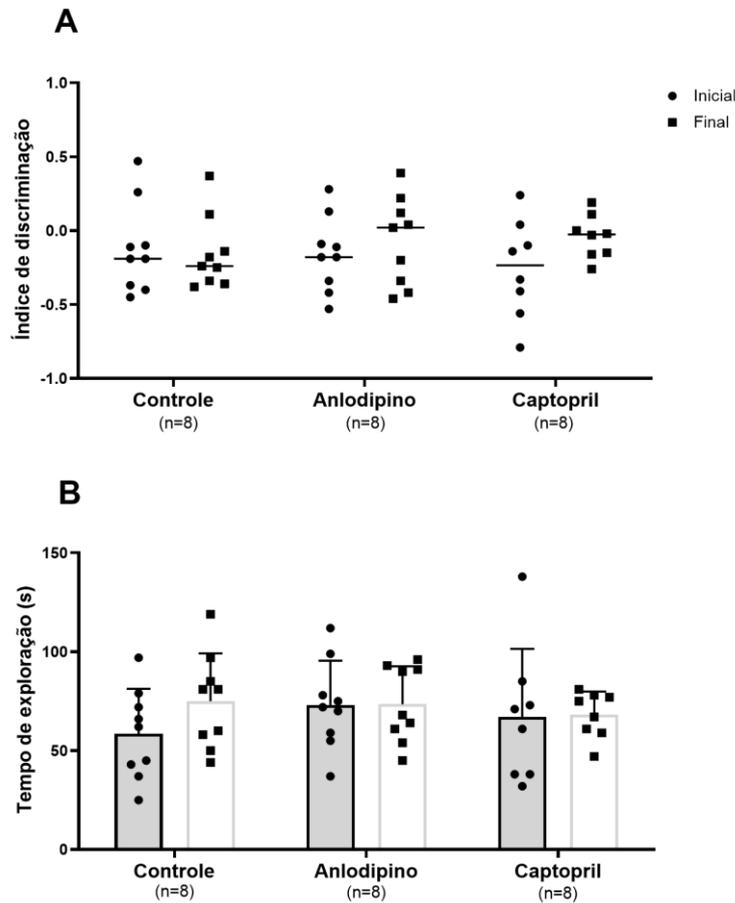
Figura 13. (A) Duração no centro do aparato. (B) Duração na periferia do aparato. (C) Distância percorrida. O tratamento com captopril ou anlodipino não alterou os parâmetros de tempo de duração no centro e na periferia e a distância total percorrida pelos ratos. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6.11 TESTE DE RECONHECIMENTO DE NOVOS OBJETOS

O teste de reconhecimento de novos objetos foi realizado na semana que antecedia o início do protocolo experimental e durante a sexta semana de protocolo experimental, os parâmetros analisados estão na FIGURA 14.

Na figura 14A podemos observar o índice de discriminação do novo objeto. O tratamento com captopril ou anlodipino não alterou este parâmetro. O tempo de exploração dos objetos, encontrado na figura 14B, também não apresentou diferença entre os animais que receberam captopril ou anlodipino.

Figura 14 – Teste de reconhecimento de novos objetos: índice de discriminação e tempo de exploração no teste de reconhecimento de novos objetos dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 14. (A) Índice de discriminação. (B) Tempo de exploração dos objetos. O tratamento com captopril e anlodipino não alterou os parâmetros analisados acima. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

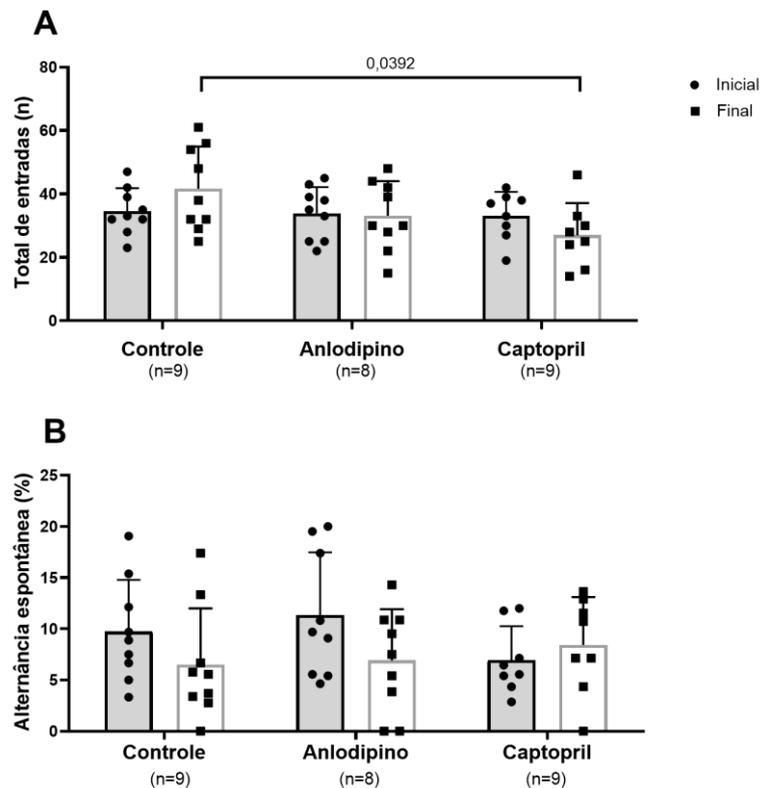
6.12 TESTE DO LABIRINTO EM T

O teste do labirinto em T foi realizado na semana que antecedeu o início do protocolo experimental e na sexta semana de protocolo experimental, os dados encontram-se na FIGURA 15.

Na figura 15A podemos observar o número total de entradas nos braços do labirinto. No final do protocolo, os ratos que receberam tratamento com captopril apresentaram um menor número de entradas nos braços do labirinto comparados aos animais do grupo controle ($p=0,0392$; FIGURA 15A).

Na figura 15B encontra-se a taxa de alternância espontânea dos ratos durante o labirinto em T, não houve diferença entre os grupos tratados neste parâmetro.

Figura 15 – Teste do labirinto em T: Número total de entradas nos braços do labirinto T e taxa de alternância espontânea dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

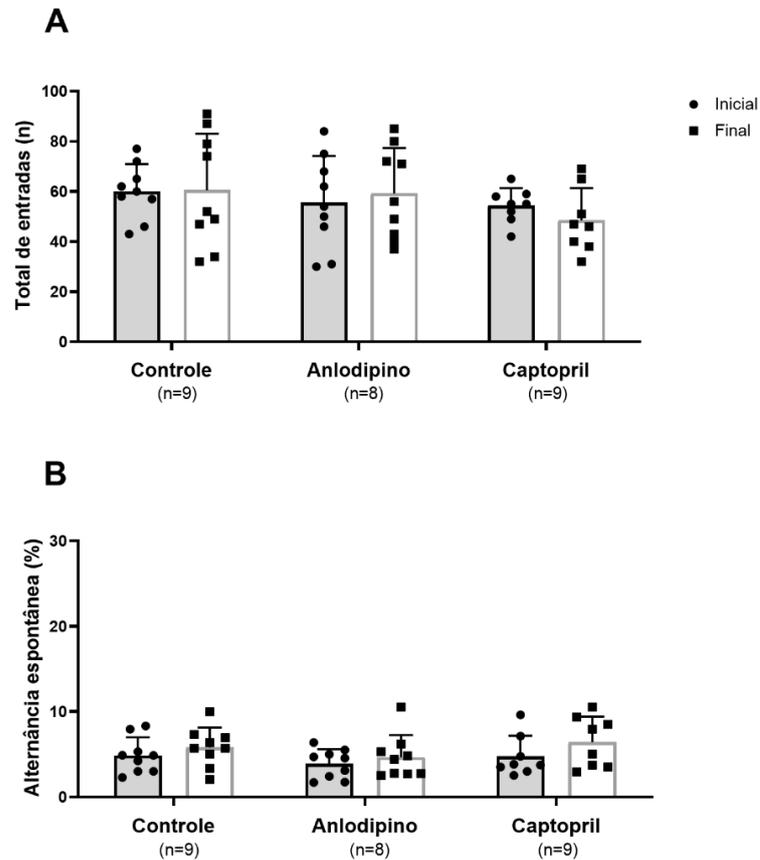
Figura 15. (A) Número total de entradas. Os animais tratados com captopril apresentaram um menor número de entradas nos braços do labirinto comparados ao grupo controle ao final do protocolo. (B) Taxa de alternância espontânea. O tratamento com captopril ou anlodipino não alterou este parâmetro. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6.13 TESTE DO LABIRINTO EM Y

O teste do labirinto em Y foi realizado na semana que antecedeu o início do protocolo experimental e na semana que antecedeu o final do protocolo experimental, os dados encontram-se na FIGURA 16.

O tratamento com captopril e anlodipino não alterou o número total de entradas pelos animais nos braços do labirinto em Y, conforme representado na figura 16A. Na figura 16B está representada a taxa de alternância espontânea a qual também não foi alterada pelo tratamento com captopril e anlodipino.

Figura 16 – Número total de entradas nos braços do labirinto em Y e taxa de alternância espontânea dos ratos SHR tratados com veículo, anlodipino e captopril



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 16. (A) Número total de entradas. (B) Taxa de alternância espontânea. O tratamento com captopril ou anlodipino não alterou os parâmetros analisados no teste do labirinto em Y. A normalidade dos dados foi testada (Shapiro-Wilk) e as diferenças foram analisadas com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

7 DISCUSSÃO

Atualmente, sabe-se que a HAS é um dos principais problemas de saúde pública e possui repercussões em todo o organismo. A principal repercussão abordada nesta pesquisa foi o comprometimento cognitivo. Estudos mostram que além do prejuízo cognitivo causado pela HAS, a hipercolesterolemia também possui influência neste prejuízo cognitivo (FUKUDA et al., 2023).

SHR são utilizados como um modelo de HAS não diabética possuindo, assim, danos progressivos em órgãos-alvo associados à HAS, sendo estes danos semelhantes à HAS humana (ELMARAQBY; SULLIVAN, 2021). Em estudos realizados com SHR utilizando uma dieta rica em gordura foi induzida não apenas doença hepática, mas também insuficiência cardíaca (MAJANE et al., 2009). Esta combinação de doenças pode levar a uma piora substancial do prognóstico de sobrevivência em pacientes humanos assim como ocorre no modelo animal (MAJANE et al., 2009). Os SHR também são mais susceptíveis a distúrbios nutricionais, lipidêmicos, glicêmicos e hiperinsulinemia devido a influências genéticas (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2009).

No presente estudo, buscou-se investigar a relação entre a hipercolesterolemia e a HAS na cognição de ratos hipertensos, e após esta investigação procuramos identificar se o controle da HAS poderia atenuar os prejuízos cognitivos. Desta forma, os SHR receberam tratamento com fármacos utilizados no controle da pressão arterial, sendo estes fármacos estudados atualmente e utilizados na clínica humana. Até o momento ainda se encontram muitas dúvidas em relação aos mecanismos que relacionam a HAS, hipercolesterolemia e declínio da cognição, portanto, este estudo busca compreender esta ligação e, assim, contribuir para a prevenção do declínio na cognição também na prática clínica.

Os grupos experimentais iniciais foram realizados com ratos Wistar e SHR que receberam DH ou dieta padrão. No primeiro resultado apresentado neste estudo os SHR mostraram maiores valores de PAS comparados aos ratos Wistar, entretanto, a DH não aumentou a PAS dos ratos dos grupos que a receberam durante sete semanas. Este resultado está de acordo com o estudo realizado por Majane e colaboradores (2009), o qual mostrou que a obesidade induzida por uma dieta rica em gordura (65% Kcal) em SHR, administrada por cinco meses, não estava associada a um aumento da pressão arterial (MAJANE et al., 2009). A literatura relata que embora a disfunção da bomba cardíaca induzida pela obesidade não possa ser atribuída a aumentos adicionais na pressão arterial, deve ser considerada a possibilidade de aumentos na pressão arterial central que não são detectados pela pletismografia de cauda (MAJANE et al., 2009).

No entanto, este resultado diverge dos resultados encontrados por Zhang e colaboradores (2024), que observaram aumento da pressão arterial em ratos WISTAR tratados com DH durante trinta dias. Esta divergência pode ser refletida pelas diferenças entre as dietas utilizadas, em nosso estudo foi utilizada uma DH composta por 40% Kcal de gordura, em comparação com a DH contendo 60% Kcal de gordura utilizada por Zhang e colaboradores (2024). Assim como no estudo citado anteriormente, Speretta e colaboradores (2019) utilizaram ratos Holtzman machos tratados com uma DH igual a utilizada em nosso estudo pelo período de seis ou sete semanas e observaram aumento da pressão arterial média (SPERETTA et al., 2019). A divergência de resultados entre o estudo de Speretta e colaboradores (2019) e o presente estudo pode estar relacionada à metodologia utilizada para o registro da pressão arterial. Speretta e colaboradores utilizaram a mensuração direta, pela canulação da artéria femoral e em nosso estudo utilizamos a pletismografia de cauda.

Além da concentração lipídica na dieta, outro fator que pode interferir nos resultados é o fator genético. As alterações induzidas pela dieta na regulação da pressão arterial podem diferir entre ratos hipertensos e normotensos. Isso ressalta a interação entre predisposição genética e influências dietéticas. Os fatores genéticos podem afetar não apenas a pressão arterial, mas também as mudanças no peso corporal (ZHANG et al., 2024).

Em nosso estudo, os ratos WISTAR do grupo que recebeu DH apresentaram maior peso corporal no final do protocolo experimental. Autores mostram que na linhagem WISTAR a DH aumenta a adiposidade e o peso corporal dos ratos e este aumento provavelmente esteja relacionado com a maior eficiência energética que estes animais apresentam (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2009). Assim como obtido em nossos resultados, autores sugerem que algumas semanas de dieta rica em gordura são suficientes para induzir ganho de peso corporal, acúmulo de gordura e alterações no perfil lipídico em ratos WISTAR (ALVES, 2020; DRUMMOND, 2016; FRANCO; CAMPOS; DEMONTE, 2009).

Os SHR, diferentemente dos ratos WISTAR, não apresentaram aumento do peso corporal com a ingestão da DH, este resultado vai ao encontro com a literatura, a qual demonstra que comparada às outras linhagens, os SHR possuem resistência ao aumento de peso corporal quando submetidos a intervenções hipercalóricas. Quando os SHR apresentam alteração ponderal derivada do tratamento, essas variações são mais amenas em comparação às observadas em ratos normotensos (CONTRERAS; KING, 1989; ZHANG et al., 1994).

A literatura relata que ainda existe muita controvérsia sobre o ganho de peso de ratos alimentados com a DH, a possível explicação para estes resultados poderia ser a ausência de padronização das dietas hiperlipídicas utilizadas nos diversos estudos (GARLIPP et al., 2011).

Muitos desses estudos não descrevem a quantidade exata de lipídios da dieta, sua densidade energética (hipercalórica ou isocalórica), o tempo de exposição à dieta ou os tipos de gordura utilizados (gordura animal ou vegetal) (GARLIPP et al., 2011).

A ingesta alimentar dos ratos foi avaliada semanalmente e a quantidade de alimento que os animais ingeriram foi calculada de acordo com o consumo médio de alimento. Na terceira e na sexta semanas de protocolo experimental, os ratos WISTAR que receberam DH apresentaram maior ingesta alimentar comparados aos SHR que receberam dieta padrão e DH. No entanto, a ingestão alimentar foi semelhante entre ratos WISTAR que receberam dieta padrão e DH. Em estudo anterior, utilizando a mesma DH que a utilizada neste estudo, os ratos WISTAR não apresentaram diferença na ingesta alimentar consumida durante o tratamento, os autores relatam que os ratos são sensíveis tanto à energia quanto ao alto teor de gordura das dietas no que diz respeito ao controle da ingestão alimentar decorrente da saciedade (SPERETTA et al., 2012b).

O colesterol total e o HDL também foram menores nos SHR comparados aos ratos WISTAR. Segundo a literatura este resultado pode ser explicado devido à maior excreção de colesterol, somada a deficiências na captação entérica e no transporte molecular (YUAN; KITTS, 2002).

A DH produziu aumento do colesterol total e LDL em ratos WISTAR e SHR. É estabelecido que o LDL atua como o principal contribuinte para doenças cardiovasculares e o HDL atua como protetor (RUSSELL; PROCTOR, 2006). A dislipidemia é caracterizada por altos níveis de colesterol sérico, especialmente LDL (YIN et al., 2012). Autores relatam que as partículas de LDL são os principais transportadores de colesterol no sangue. Quando estas partículas estão sobrecarregadas na corrente sanguínea, elas tendem a ser oxidadas e absorvidas pelos macrófagos, que ficam presos nas paredes dos vasos sanguíneos, contribuindo para a formação de placas ateroscleróticas (ZHANG; LIU, 2015).

A DH reduziu a concentração plasmática de HDL apenas em ratos WISTAR. As partículas de HDL transportam o colesterol de volta ao fígado através do transporte reverso do colesterol, seja para excreção ou para síntese de hormônios (ZHANG; LIU, 2015). Estudos sugerem que uma alimentação composta por uma dieta rica em gordura afeta o metabolismo, a regulação, o acúmulo e o transporte de lipídios. Desta forma, os níveis de colesterol total e HDL não são alterados da mesma forma, por que o colesterol se acumula no fígado enquanto as partículas HDL mantêm a sua capacidade de transporte de colesterol (HOJNÁ et al., 2024).

Nosso estudo possuiu o objetivo de avaliar a cognição dos ratos após uma dieta padrão e uma DH. Desta forma, a locomoção e comportamento do tipo ansioso, a memória de

reconhecimento, memória espacial de curto prazo e a memória de trabalho dos ratos foram avaliadas. O primeiro teste realizado foi o teste do campo aberto, os SHR permaneceram um maior tempo no centro do aparato comparados aos ratos WISTAR. Estudos mostram que alta atividade e maior tempo gasto na zona interna apresentam baixos níveis de ansiedade (WARTON; HOWELLS; RUSSELL, 2009). Sendo assim, os SHR apresentaram níveis de ansiedade mais baixos do que os ratos WISTAR, corroborando com outros estudos realizados (FRANÇA et al., 2020; RAMOS et al., 2002a; SONG et al., 2021). A literatura ainda apresenta controvérsias sobre o comportamento ansioso dos SHR. Ramos e colaboradores (2002) relatam que baixos níveis de ansiedade são característicos da cepa SHR, pois geralmente exploram ambientes mais aversivos quando comparados com as outras linhagens, entretanto, outros autores, como Russell e colaboradores (2005) e Sagvolden e colaboradores (2008), relatam que os SHR apresentam comportamento ansioso e hiperatividade (RAMOS et al., 2002; RUSSELL; SAGVOLDEN; JOHANSEN, 2005; SAGVOLDEN et al., 2008).

No teste do campo aberto, a DH alterou apenas o parâmetro de distância percorrida no grupo de ratos WISTAR. Os ratos Wistar que receberam DH diminuíram a distância percorrida durante o teste no final do protocolo experimental.

O presente estudo avaliou a memória de reconhecimento por meio do teste de reconhecimento de novos objetos. Este teste baseia-se na tendência do animal de se aproximar e explorar a novidade e reconhecer um estímulo previamente apresentado (COHEN; STACKMAN, 2015b). O índice de discriminação varia de -1 a +1, com pontuações negativas indicando preferência pelo objeto familiar e pontuações positivas significando preferência pelo objeto novo (BROADBENT et al., 2010; QUILLFELDT, 2015). Um rato que esteja cognitivamente intacto passará a maior parte do tempo investigando o novo objeto e, portanto, terá um índice de discriminação positivo. Entretanto, um rato com memória prejudicada não lembrará do objeto familiar e gastará tempo igual investigando ambos os objetos (BROADBENT et al., 2010; QUILLFELDT, 2015). Não houve diferença no índice de discriminação dos ratos nos grupos experimentais estudados, assim como não houve diferença no tempo de exploração do objeto novo pelos ratos das linhagens WISTAR e SHR, indicando que tanto a HAS como a hipercolesterolemia não impactaram a memória de reconhecimento de ratos.

No teste do labirinto em T, utilizado para avaliar a memória espacial de curto prazo, não houve diferença entre as linhagens de ratos ou entre as dietas nos parâmetros de número total de entradas nos braços do labirinto e taxa de alternância espontânea. Em concordância com nosso resultado, no estudo realizado por Boitard e colaboradores (2014), ratos Wistar

machos alimentados com DH contendo 24% de gordura durante quatro semanas após o desmame (3 semanas) ou na fase adulta (12 semanas) não apresentaram prejuízo na memória espacial de curto prazo quando comparados a animais tratados com dieta padrão (BOITARD et al., 2014). No estudo de Kosari e colaboradores (2012) ratos da linhagem Longe Evans receberam uma dieta ocidental, contendo 21% de gordura ou uma dieta rica em gorduras contendo 60% de gordura durante doze semanas, após o tratamento os pesquisadores concluíram que estas dietas causaram prejuízo na memória espacial de curto prazo e na memória de trabalho, em ratos machos da linhagem Long Evans. Em nosso estudo os ratos Wistar tratados com a DH não apresentaram prejuízos na memória, porém utilizamos ratos de linhagens diferentes e nossa dieta foi composta por 40% Kcal de gordura, divergindo assim das dietas utilizadas no estudo de Kosari e colaboradores (2012).

As pesquisadoras Clements e Wainwright (2006) sugerem que os SHRs não apresentam um déficit de memória de referência espacial no teste do labirinto em T e por isso, as entradas em braços errados do labirinto podem ser o resultado de um comportamento hiperativo e não de déficits cognitivos (CLEMENTS; WAINWRIGHT, 2006). Em contraste a este estudo, em nosso estudo não houve diferença entre as linhagens de ratos ou entre as dietas nos parâmetros de número total de entradas nos braços do labirinto em T, sendo assim, os SHR não apresentaram comportamento hiperativo neste teste.

Considerando o papel predominante do córtex pré-frontal na memória espacial (KISHIKAWA et al., 2014), utilizamos o teste do labirinto em Y para analisar o índice de alternância e avaliar a função da memória de trabalho. Ratos com memória de trabalho intacta possuem comportamento de alternância espontânea, lembrando do braço do labirinto em que estiveram recentemente e alternam entre os braços do labirinto. Caso a memória de trabalho esteja prejudicada o rato retorna ao braço do labirinto que acabou de visitar (YABUKI et al., 2014). É relatado que os SHR têm um desempenho ruim no teste do labirinto Y em comparação com outras linhagens de ratos, embora isso possa ser atribuído ao fato de terem um transtorno de déficit de atenção e hiperatividade em vez de memória prejudicada (KISHIKAWA et al., 2014; YABUKI et al., 2014; YOON et al., 2013). Entretanto, no presente estudo, os ratos de ambas as linhagens e tratamentos apresentaram alternância espontânea e número total de entradas nos braços do labirinto semelhantes, sendo assim, não houve diferença entre as linhagens ou entre os tratamentos nos parâmetros avaliados. A partir deste resultado não podemos inferir que os SHR apresentaram déficit de memória espacial ou que a DH impactou este parâmetro.

Foi demonstrado que no teste de reconhecimento de novos objetos, a dificuldade apresentada pelos ratos SHR na discriminação entre o objeto novo e o familiar ocorre devido a um prejuízo na aquisição de informações durante a fase na qual os objetos são apresentados a esses animais pela primeira vez, que pode ser conseqüência da impulsividade ou da dificuldade de manter uma atenção sustentada (PIRES, 2008).

Além dos grupos experimentais realizados para analisar os efeitos da DH na cognição dos ratos, realizamos também grupos experimentais em que os SHR receberam tratamento com fármacos anti-hipertensivos amplamente utilizados na clínica humana para analisar se ocorreria melhora na cognição e memória dos ratos após tratamento da HAS. Entre os fármacos anti-hipertensivos mais utilizados, foram escolhidos fármacos da classe de bloqueadores dos canais de cálcio, o besilato de anlodipino, sendo este um medicamento anti-hipertensivo comumente prescrito e, também, um fármaco pertencente à classe dos inibidores da enzima conversora de angiotensina, o captopril, que é um fármaco indicado para tratamento da HAS e alguns casos de insuficiência cardíaca (SANTELLO JOSÉ LUIZ; MION JUNIOR, 1998).

O tratamento com captopril diminuiu a PAS dos ratos a partir da terceira semana de protocolo experimental, já o tratamento com besilato de anlodipino diminuiu a PAS dos ratos a partir da quinta semana do protocolo experimental. Este resultado mostra que as intervenções reduziram expressivamente a PAS dos ratos hipertensos.

Com base nos resultados apresentados no presente estudo, podemos inferir que o tratamento com os fármacos anti-hipertensivos não provocou alteração no peso corporal e na ingesta alimentar dos ratos durante o protocolo experimental. Estudos mostram que a inibição da enzima conversora de angiotensina por meio de medicamentos (por exemplo, captopril, perindopril) pode levar a uma redução do peso corporal e da massa gorda devido ao aumento da oxidação da gordura como resultado do aumento da adiponectina, a qual é liberada pelo tecido adiposo (WEISINGER et al., 2009). Porém, no presente estudo, este efeito não foi observado.

No teste do campo aberto e nos demais testes de memória realizados (reconhecimento de novos objetos, labirinto em T e labirinto em Y) não foram observadas alterações decorrentes da administração dos medicamentos. Sabe-se que o anlodipino, assim como a nimodipina e a felodipina são potentes reguladores dos canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem do tipo L (ZUPAN et al., 1996). Sua importância na terapia cardiovascular é conhecida por muito tempo (ZUPAN et al., 1996). O anlodipino e a nimodipina são documentados também no tratamento de mania aguda (BRUNET et al., 1990) e estados hipomaniacos (AUBY et al.,

1992) podendo melhorar a aprendizagem e a memória em idosos, ratos, coelhos, macacos com deficiência cognitiva (DEYO et al., 1989; SANDIN et al., 1990; LEVERE E WALKER, 1991) e em ratos com lesões cerebrais, principalmente no hipocampo ou no córtex (ANDERSEN et al., 1990; FINGER et al., 1990). Estudos trazem que o tratamento com besilato de anlodipino preveniu um aumento da resistência vascular da vasculatura cerebral em SHR, sendo este um efeito benéfico deste fármaco sobre a vasculatura cerebral (NAESSENS et al., 2023b). O tratamento com besilato de anlodipino (5mg/kg/dia) durante sete semanas corrigiu parcialmente a estrutura e função cerebrovascular, sugerindo que a redução da pressão arterial por si só protege da disfunção vascular (NAESSENS et al., 2023b). Em nosso estudo utilizamos a dose de 10mg/kg/dia de anlodipino e assim como no estudo de Naessens e colaboradores (2023) o tratamento com anlodipino também diminui a PAS dos SHR, entretanto, em nosso estudo não foi realizada avaliação da função vascular. Assim, buscamos identificar se esta melhora na função cerebrovascular também estaria manifestada na cognição e memória dos SHR, o que não foi observado.

As alterações induzidas pelo captopril no comportamento dos ratos podem estar relacionadas à ação simpatolítica resultante da inibição da enzima conversora de angiotensina (REPOVA et al., 2019). A literatura mostra que o tratamento com captopril teve atividade protetora contra lesões mediadas pelo estresse oxidativo em fatias cerebrais de ratos normotensos e hipertensos (FROSINI et al., 2021). Entre os vários potenciais mecanismos, não pode ser descartada a possibilidade de a inibição da enzima conversora de angiotensina levar a um aumento da bradicinina cerebral reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio (JOHNSON et al., 2019). As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem ser consideradas essenciais para o desenvolvimento adequado das funções neuronais quando ocorrem em quantidades baixas ou moderadas (SALIM, 2017). Entretanto, quando estão em excesso, são prejudiciais e podem levar ao estresse oxidativo, podendo levar à liberação de sinais inflamatórios, resultando em neuroinflamação, perda de função e, conseqüentemente, em alterações comportamentais (AUGUST et al., 2020; CIRULLI; MUSILLO; BERRY, 2020; DIAS et al., 2020). No entanto, no presente estudo a administração de captopril por 7 semanas não produziu efeitos na memória de SHR. Este resultado diverge dos resultados encontrados em outros estudos, Wyss e colaboradores (1992) mostraram que o tratamento crônico com captopril evitou os déficits de aprendizagem e memória observados em SHR, apoiando assim a hipótese de que a pressão arterial elevada não controlada se correlaciona negativamente com o desempenho cognitivo (WYSS; FISK; VAN GROEN, 1992). Entretanto, no estudo de Wyss foi realizado um tratamento com captopril durante nove meses,

em nosso estudo realizamos o tratamento por apenas sete semanas, sendo esta uma possível explicação para a divergência entre os resultados.

No estudo de Gannon e colaboradores (2024), no qual foi utilizado o fármaco captopril, administrado na água de beber, durante três meses, foi observada melhora da perfusão do hipocampo e restauração da função da memória de longo prazo no teste de reconhecimento de novos objetos, sem melhorar a memória de trabalho, este resultado sugere que a disfunção induzida pela HAS pode ser a causa do declínio da memória dependente do hipocampo nos SHR (GANNON et al., 2024). Sendo assim, os fármacos anti-hipertensivos utilizados neste estudo diminuíram a PAS, mas não alteraram o comportamento dos ratos nos testes de memória.

8 CONCLUSÃO

Em conjunto, conclui-se que a administração de DH não causou prejuízos na cognição dos SHR e ratos Wistar, assim como a utilização de captopril e anlodipino também não provocou alteração na memória dos SHR.

São necessários novos estudos para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na relação entre hipercolesterolemia, HAS e declínio cognitivo e assim, surgirem novas abordagens para a prevenção de declínio cognitivo associado a HAS e hipercolesterolemia.

Limitações

São necessárias maiores investigações a respeito do efeito da hipercolesterolemia no córtex pré-frontal de ratos hipertensos e Wistar, visto que o córtex pré-frontal é a principal área responsável pela cognição e memória.

Em nosso estudo, não foi possível realizar também a análise de insulina e citocinas inflamatórias, estas análises permitiriam um maior entendimento a cerca dos efeitos da DH no organismo dos ratos. Entretanto, nosso estudo serviu como uma pesquisa inicial em busca de identificar formas de tratamento dos prejuízos a memória e cognição causados pela HAS.

REFERÊNCIAS

- ALFLEN, L. et al. **Characterization of heart failure with preserved ejection fraction model induced by l-name and high-fat diet in rats.** In: ANAIS DA XXXVII REUNIÃO ANUAL DA FESBE, 2023, Búzios. Anais eletrônicos. 2023.
- ALVES, J. M. **Efeitos do treinamento físico sobre adiposidade visceral, tecido adiposo marrom e parâmetros metabólicos de ratos WISTAR alimentados com dieta hiperlipídica.** Tese (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade de São Carlos. São Paulo, p.1-95.
- AOUN, M. et al. Rat liver mitochondrial membrane characteristics and mitochondrial functions are more profoundly altered by dietary lipid quantity than by dietary lipid quality: Effect of different nutritional lipid patterns. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 5, p. 647–659, 2012.
- ATLAS, S.A. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. **Journal of Managed Care Pharmacy (JMCP)** 2007;13(8):9–20.
- AUGUST, P. M. et al. Effect of Maternal Exercise on Diet-induced Redox Imbalance in Hippocampus of Adult Offspring. **Neuroscience**, v. 437, p. 196–206, 2020.
- BAGBY, S. P.; MCDONALD, W. J.; MASS, R. D. Serial renin-angiotensin studies in spontaneously hypertensive and wistar-kyoto normotensive rats transition from normal-to high-renin status during the established phase of spontaneous hypertension. **Hypertension**, v. 1(4), p. 347–354, 1979.
- BARROSO, W. K. S. et al. **Brazilian guidelines of hypertension – 2020.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia. [s.l.] Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2021.
- BOITARD, C. et al. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 40, p. 9–17, 2014.
- BOUSTANY C.M et al. Ativação do sistema renina-angiotensina sistêmico e adiposo em ratos com obesidade e hipertensão induzidas por dieta. **Revista Americana de Fisiologia. Fisiologia Regulatória, Integrativa e Comparativa**. 2004; 287 (4):R943–R949.
- BROADBENT, N. J. et al. Object recognition memory and the rodent hippocampus. **Learning and Memory**, v. 17, n. 1, p. 794–800, 2010.
- BRUNET, G. et al. Open Trial of a Calcium Antagonist Nimodipine, in Acute Mania. **Clinical Neuropharmacology**, v. 13, n. 3, p. 224–228, 1990.

CIRULLI, F.; MUSILLO, C.; BERRY, A. Maternal Obesity as a Risk Factor for Brain Development and Mental Health in the Offspring. **NeuroscienceElsevier Ltd**, 1 nov. 2020.

CLEMENTS, K. M.; WAINWRIGHT, P. E. Spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rats differ in performance on a win-shift task in the water radial arm maze. **Behavioural Brain Research**, v. 167, n. 2, p. 295–304, 28 fev. 2006.

COHEN, S. J.; STACKMAN, R. W. Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. **Behavioural Brain Research**, v. 285, p. 105–117, 5 maio 2015.

CONTRERAS, R. J.; KING, S. High Fat/Sucrose Feeding Attenuates the Hypertension of Spontaneously Hypertensive Rats. **Physiology & Behavior**, v. 46, p. 285–291, 1989.

DE PAULA, G. C. et al. Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood–Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, 4 nov. 2021.

DEACON, R.M., RAWLINS, J.N. T-maze alternation in the rodent. **Nat Protoc**. 2006;1(1):7-12. doi: 10.1038/nprot.2006.2. PMID: 17406205.

DEL MAURO, J. S. et al. Effects of third-generation β -blockers, atenolol or amlodipine on blood pressure variability and target organ damage in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 38, n. 3, p. 536–545, 1 mar. 2020.

DEYO, R. A.; STRAUBE, K. T.; DISTERHOFT, J. F. Nimodipine Facilitates Associative Learning in Aging. **RabbitsSource: Science, New Series**. [s.l: s.n.].

DIAS, C. T. et al. Maternal high-fat diet stimulates proinflammatory pathway and increases the expression of Tryptophan Hydroxylase 2 (TPH2) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in adolescent mice hippocampus. **Neurochemistry International**, v. 139, 1 out. 2020.

DICKHOUT, J. G.; LEE, R. M. K. W. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **American Physiological Society**, v. 274, n. 3, p. H794–H800, 1998.

DINIZ, Y. S. A. et al. Diets Rich in Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids: Metabolic Shifting and Cardiac Health. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 230–234, 2004.

DURON E, HANON O. Vascular risk factors, cognitive decline, and dementia. **Vasc Health Risk Manag**. 2008;4(2):363-81.

DRUMMOND, F. R. **Efeito do exercício físico aeróbico na esteatose hepática não alcoólica em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica.** Tese (Mestrado em saúde e nutrição) – Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p.1-68.

ELMARAKBY, A. A.; SULLIVAN, J. C. Sex differences in hypertension: Lessons from spontaneously hypertensive rats (SHR). **Clinical Science Portland Press Ltd**, , 1 ago. 2021.

ELY, D. L.; TURNER, M. E.; EH, D. L. Hypertension in the Spontaneously Hypertensive Rat Is Linked To the Y Chromosome. **Hypertension**, v. 16, n. 3, p. 277–281, 1990.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. **Behav Brain Res**. 1988 Nov 1;31(1):47-59.

ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218–224, 2004.

FARACO, G. et al. Perivascular macrophages mediate the neurovascular and cognitive dysfunction associated with hypertension. **The Journal of Clinical Investigation**, 126(12), 4674–4689, (2016).

FRANCO, L. D. P.; CAMPOS, J. A. D. B.; DEMONTE, A. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. **Revista de Nutrição - Campinas**, p. 359–366, 2009.

FRANÇA, A. P. et al. Caffeine consumption plus physical exercise improves behavioral impairments and stimulates neuroplasticity in spontaneously hypertensive rats (shr): an animal model of attention deficit hyperactivity disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 57, n. 9, p. 3902–3919, 1 set. 2020.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **CLINICAL CHEMISTRY**. 1972 Jun;18(6):499-502.

FROHLICH, E. D. Essential Hypertension Pathophysiological Mechanisms and Therapy. **Arch Intern Med**, v. 137, p. 772–775, jun. 1977.

FROSINI, M. et al. Effects of aqueous extract of lycopersicum esculentum L. var. “Camone” tomato on blood pressure, behavior and brain susceptibility to oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **Pathophysiology**, v. 28, n. 1, p. 189–201, 2021.

FUKUDA, N. et al. 5-Aminolevulinic acid hydrochloride enhances bupivacaine-induced hypotension in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 152, n. 1, p. 22–29, 2023.

GANNON, O. et al. Angiotensin II-mediated hippocampal hypoperfusion and vascular dysfunction contribute to vascular cognitive impairment in aged hypertensive rats. **Alzheimer's and Dementia**, v. 20, n. 2, p. 890–903, 1 fev. 2024.

GARLIPP, M. P. et al. A high-fat diet as a model of fatty liver disease in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 25–30, 2011.

GOEDEKE, L., FERNANDEZ-HERNANDO, C. Regulação da homeostase do colesterol. Célula. **Mol. Ciência da Vida.**, 69 (2012), págs. 915-930.

GULIAEV, S.M., URBANOVA, E.Z. Cognitive impairments and microvascular endothelial dysfunction in unilateral occlusion of the carotid artery. **Angiol Sosud Khir.** 2019;25(3):17-22. Russian.

HOJNÁ, S. et al. Hepatoprotective and cardioprotective effects of empagliflozin in spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 174, 1 maio 2024.

HUGHES, D. et al. Association of Blood Pressure Lowering with Incident Dementia or Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 19, p. 1934–1944, 2020.

IADECOLA, C.; GOTTESMAN, R. F. Neurovascular and Cognitive Dysfunction in Hypertension: Epidemiology, Pathobiology, and Treatment. **Circulation Research**, v. 124, n. 7, p. 1025–1044, 29 mar. 2019.

JAMA, H. A. et al. Rodent models of hypertension. **British Journal of Pharmacology**, v. 179, n. 5, p. 918–937, 2022.

JOHNSON, A. C.; MILLER, J. E.; CIPOLLA, M. J. Memory impairment in spontaneously hypertensive rats is associated with hippocampal hypoperfusion and hippocampal vascular dysfunction. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 40, n. 4, p. 845–859, 1 abr. 2020.

JOHNSON, A. C.; MILLER, J. E.; CIPOLLA, M. J. Memory impairment in spontaneously hypertensive rats is associated with hippocampal hypoperfusion and hippocampal vascular dysfunction. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 40, n. 4, p. 845–859, 1 abr. 2020.

JOHNSON, S. L. et al. Polyphenol microbial metabolites exhibit gut and blood–brain barrier permeability and protect murine microglia against Ips-induced inflammation. **Metabolites**, v. 9, n. 4, 1 abr. 2019.

KAESEMEYER, W. H. et al. Pravastatin Sodium Activates Endothelial Nitric Oxide Synthase Independent of Its Cholesterol-Lowering Actions. **J AM Coll Cardiol**, v. 33, n. 1, p. 234–241, 1999.

KILKENNY, C.; BROWNE, W.J.; CUTHILL, I.C.; EMERSON, M.; ALTMAN, D.G. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. **PLoS Biol.** 2010 Jun 29;8(6).

KISHIKAWA, Y. et al. The spontaneously hypertensive rat/Izm (SHR/Izm) shows attention deficit/hyperactivity disorder-like behaviors but without impulsive behavior: Therapeutic implications of low-dose methylphenidate. **Behavioural Brain Research**, v. 274, p. 235–242, 1 nov. 2014.

KNARDAHL, S.; KARLSEN, K. Passive-Avoidance Behavior of Spontaneously Hypertensive Rats. **Behavioral and neural biology**. 1984 Sep;42(1):9-22.

KOSARI, Sepideh et al. Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. **Behavioural brain research**, v. 235, n. 1, p. 98-103, 2012.

LEGER, M., QUIEDEVILLE, A., BOUET, V. et al. Object recognition test in mice. **Nat Protoc.** 8, 2531–2537, 2013.

LEVERE, T. E.; WALKER, A. Old Age and Cognition: Enhancement of Recent Memory in Aged Rats by the Calcium Channel Blocker Nimodipine **INeurobiology of Aging**. [s.l.] Pergamon Press plc, 1991.

LI, J. Q. et al. Risk factors for predicting progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 87, n. 5, p. 476–484, 2016.

LUO, M. et al. Sodium ferulate inhibits myocardial hypertrophy induced by abdominal coarctation in rats: Involvement of cardiac PKC and MAPK signaling pathways. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 2019;112:108735.

LEGER, M. et al. Object recognition test in mice. **Nature Protocols**, v. 8, n. 12, p. 2531–2537, 2013.

MAJANE, O. H. I. et al. Dietary-induced obesity hastens the progression from concentric cardiac hypertrophy to pump dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 54, n. 6, p. 1376–1383, 2009.

MAZZARO, C. C. et al. Intervenções em dieta e pressão arterial na América Latina - revisão sistemática e meta-análise. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 4, p. 345–354, 2014.

- MCGRATH J.C. et al. Guidelines for reporting experiments involving animals: the ARRIVE guidelines. **British Journal of Pharmacology** (2010)1601573–1576.
- MEISSNER, A. et al. Structural and functional brain alterations in a murine model of Angiotensin II-induced hypertension. **Journal of Neurochemistry**, v. 140, n. 3, p. 509–521, 2017.
- MOREIRA, P. I. et al. Brain mitochondrial dysfunction as a link between Alzheimer's disease and diabetes. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 257, n. 1–2, p. 206–214, 15 jun. 2007.
- NAESSENS, D. M. P. et al. Effect of long-term antihypertensive treatment on cerebrovascular structure and function in hypertensive rats. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2023.
- NAWATA, K. Heart diseases, hypertension and effects of antihypertensive medications: Is hypertension a true risk factor of heart diseases? **Frontiers in Public Health**, v. 10, n. 929840, p. 1–13, 2022.
- OKAMOTO KOZO; AOKI KYUZO. Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. **Jpn Circ J.** 27:282-93, 1963.
- OLIVEIRA JÚNIOR, S. A. et al. Nutritional and Cardiovascular Profiles of Normotensive and Hypertensive Rats kept on a High Fat Diet. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 5, p. 487–494, 2009.
- PARÉ, W. P. Stress Ulcer and Open-Field Behavior of Spontaneously Hypertensive, Normotensive, and Wistar Rats. **Physiol. Behav.**, v. 24, n. 2, p. 54–57, 1993.
- PELLOW, S. et al. Validation of open" closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**. [s.l: s.n.].
- PFRIEGER, F. W.; UNGERER, N. Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. **Progress in Lipid Research**, out. 2011.
- PIRES, V. A. et al. Adenosine receptor antagonists improve short-term object-recognition ability of spontaneously hypertensive rats: A rodent model of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioural Pharmacology**, v. 20, n. 2, p. 134–145, mar. 2009.
- POTTS, J. T.; MCKEOWN, K. P.; SHOUKAS, A. A. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. **American Physiological Society**, v. 274, n. 4, 1998.

PUTTI, R. et al. Skeletal muscle mitochondrial bioenergetics and morphology in high fat diet induced obesity and insulin resistance: Focus on dietary fat source. **Frontiers in Physiology** Frontiers Media S.A., , 20 jan. 2016.

QUILLFELDT, J. A. Behavioral methods to study learning and memory in rats. *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*. **Springer International Publishing**, 2015. p. 271–311.

RAMOS, A. et al. Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. **Behav Brain Res**. 2002;129(1-2):113-23.

REPOVA, K. et al. Lisinopril reverses behavioural alterations in spontaneously hypertensive rats. **General Physiology and Biophysics**, v. 38, n. 3, p. 265–270, 2019.

RÍOS, J.A. Is Alzheimer's disease related to metabolic syndrome? A Wnt signaling conundrum. **Progress in Neurobiology**. v. 121, 2014, p.125-146.

ROBERTO IV, LATARO RM, HONORATO LA. **Administração de substâncias em meio skim milk facilita a ingestão voluntária em ratos jovens**. Resumos apresentados no XVI Congresso da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório e V Encontro Latino Americanos de Ciência em Animais de Laboratório. Goiania, 2021.

ROBIN L., A.; MARTIN, P. P. Neural systems underlying approach and avoidance in anxiety disorders. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 12, n. 4, p. 517–531, 31 dez. 2010.

ROSSI, M. A., PERES, L.C. Effect of captopril on the prevention and regression of myocardial cell hypertrophy and interstitial fibrosis in pressure overload cardiac hypertrophy. **Am. Heart J.**, 124 (1992), p. 700-709.

RUSHWORTH, J.V., HOOPER, N.M. Lipid rafts: linking Alzheimer's amyloid-beta production, aggregation, and toxicity at neuronal membranes. **Int. J. Alzheimers Dis**. 2011. pág. 603052.

RUSSELL, J. C.; PROCTOR, S. D. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. **Cardiovascular Pathology**. 2006.

RUSSELL, V. A.; SAGVOLDEN, T.; JOHANSEN, E. B. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and Brain Functions**, 15 jul. 2005.

SAGVOLDEN, T. et al. Behavioral and genetic evidence for a novel animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Predominantly Inattentive Subtype. **Behav Brain Funct**. 2008;4:56.

SALIM, S. Oxidative stress and the central nervous system. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**. 2017;360(1):201-205.

SANTOS, D. O., et al. Reduced expression of adherens and gap junction proteins can have a fundamental role in the development of heart failure following cardiac hypertrophy in rats, **Experimental and Molecular Pathology**, v100 (1), 2016, p. 167-176,

SANTELLO JOSÉ LUIZ; MION JUNIOR, D. Captopril Associado à Hidroclorotiazida no Tratamento da Hipertensão Leve e Moderada. Estudo Multicêntrico Brasileiro. **Arq Bras Cardiol**, v. 71, n. 5, p. 713–716, 1998.

SASHIDA, V. T.; FONTES, S. V.; DRIUSSO, P. Association between arterial hypertension and cognition. **Revista Neurociencias**, v. 16, n. 2, p. 152–156, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2010.

SONG, Y. et al. An shen ding zhi ling alleviates symptoms of attention deficit hyperactivity disorder via anti-inflammatory effects in spontaneous hypertensive rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 18 jan. 2021.

SPARKS, D.L. et al. Influence of water quality on cholesterol-induced tau pathology: preliminary data. **Int. J. Alzheimer's Dis.**, 2011 (2011), p. 987023

SPERETTA, G. F. et al. Importance of AT1 and AT2 receptors in the nucleus of the solitary tract in cardiovascular responses induced by a high-fat diet. **Hypertension Research**, v. 42, n. 4, p. 439–449, 1 abr. 2019.

SPERETTA, G. F. F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**, v. 67, n. 12, p. 1469–1477, dez. 2012b.

SUBASINGHE, A. K. et al. Association between salt and hypertension in rural and urban populations of low to middle income countries: A systematic review and meta-analysis of population-based studies. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 402–413, 2016.

SUTTERER, J. R.; PERRY, J.; DEVITO, W. Two-way shuttle box and lever-press avoidance in the spontaneously hypertensive and normotensive rat. **J Comp Physiol Psychol**. 1980 Feb;94(1):155-63.

TCHEKALAROVA, J. et al. Spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto and Wistar rats: An assessment of anxiety, motor activity, memory performance, and seizure susceptibility. **Physiology and Behavior**, v. 269, 1 out. 2023.

TERRY, A. V et al. Deficits in spatial learning and nicotinic acetylcholine receptors in older, spontaneously hypertensive rats. **Neuroscience**, v. 101, n. 2, p. 357–368, 2000.

THIRUMANGALAKUDI, L. et al. Amyloid Precursor Protein Processing Correlate. **Journal of Neurochemistry**, v. 106, n. 1, p. 475–485, 2014.

TOMASSONI, D. et al. Morphological and conduction changes in the sciatic nerve of spontaneously hypertensive rats. **Neuroscience Letters**, v. 362, n. 2, p. 131–135, 20 maio 2004.

TOMAZ DE CASTRO, Q. J. et al. Effects of physical exercise combined with captopril or losartan on left ventricular hypertrophy of hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 43, n. 6, p. 536–549, 2021.

TRIPPODO, N. C.; FROHLICH, E. D. Similarities of Genetic (Spontaneous) Hypertension Man and Rat. **Circulation Research**, v. 48, n. 3, p. 309–319, mar. 1981.

ULRICH-LAI, Y. M. et al. **Stress exposure, food intake and emotional state**. Stress Taylor and Francis Ltd, , 4 jul. 2015.

UNGER, T. et al. 2020 International society of hypertension global hypertension practice guidelines. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1334–1357, 1 jun. 2020.

UNGVARI, Z. et al. Hypertension-induced cognitive impairment: from pathophysiology to public health. **Nat Rev Nephrol**. 2021 Oct;17(10):639-654.

VANCE, J.A. Desregulação do equilíbrio do colesterol no cérebro: contribuição para doenças neurodegenerativas. **Des. Modelos Mec.**, 5 (2012), págs. 746 - 755.

VILELA, W. R. et al. Early-life metabolic dysfunction impairs cognition and mitochondrial function in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 117, 1 jul. 2023.

WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, mar. 2007.

WATTS, A.S. et al. Síndrome metabólica e declínio cognitivo na doença de Alzheimer precoce e idosos saudáveis. **Doença de J. Alzheimer.**, 35 (2013), p. 253 - 265.

WARTON, F. L.; HOWELLS, F. M.; RUSSELL, V. A. Increased glutamate-stimulated release of dopamine in substantia nigra of a rat model for attention-deficit/hyperactivity disorder-lack of effect of methylphenidate. **Metabolic Brain Disease**, v. 24, n. 4, p. 599–613, dez. 2009.

WEISINGER, R. S. et al. Angiotensin converting enzyme inhibition lowers body weight and improves glucose tolerance in C57BL/6J mice maintained on a high fat diet. **Physiology and Behavior**, v. 98, n. 1–2, p. 192–197, 4 ago. 2009.

WOLF, T. J. et al. Affects cognition and upper-extremity function in controlled trial. **The American Journal of Occupational Therapy**, v. 70, n. 2, p. 1–10, 2016.

WRIGHT, R. L.; GILMOUR, G.; DWYER, D. M. Wistar Kyoto Rats Display Anhedonia In Consumption but Retain Some Sensitivity to the Anticipation of Palatable Solutions. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, 3 jun. 2020.

WYSS, J. M.; FISK, G.; VAN GROEN, T. Impaired learning and memory in mature spontaneously hypertensive rats. **Brain Research**. [s.l: s.n.].

YABUKI, Y. et al. Aberrant CaMKII activity in the medial prefrontal cortex is associated with cognitive dysfunction in ADHD model rats. **Brain Research**, v. 1557, p. 90–100, 4 abr. 2014.

YAQUB, A. et al. Risk factors, neuroimaging correlates and prognosis of the motoric cognitive risk syndrome: A population-based comparison with mild cognitive impairment. **European Journal of Neurology**, n. December 2021, p. 1–13, 2022.

YIN, W. et al. Plasma lipid profiling across species for the identification of optimal animal models of human dyslipidemia. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 1, p. 51–65, jan. 2012.

YOON, S. Y. et al. Oroxylin A improves attention deficit hyperactivity disorder-like behaviors in the spontaneously hypertensive rat and inhibits reuptake of dopamine in vitro. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, n. 1, p. 134–140, jan. 2013.

YUAN, Y. V.; KITTS, D. D. Dietary fat source and cholesterol interactions alter plasma lipids and tissue susceptibility to oxidation in spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar Kyoto (WKY) rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**. [s.l: s.n.].

ZHANG, J.; LIU, Q. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. **Protein and Cell**, v. 6, n. 4, p. 254–264, 1 abr. 2015.

ZHANG, T. et al. Cardiovascular and analgesic effects of a highly palatable diet in spontaneously hypertensive and wistar-kyoto rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 48, n. I, p. 57–61, 1994.

ZHANG, Y. et al. Effect of high-fat diet on cerebral pathological changes of cerebral small vessel disease in SHR/SP rats. **GeroScience**, 2024.

ZUPAN, G. et al. Effects of nimodipine, felodipine and amlodipine on electroconvulsive shock-induced amnesia in the rat. **European Journal of Pharmacology**. [s.l: s.n.].

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**Universidade Federal
de Santa Catarina**

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "IMPACTO DO COLESTEROL PLASMÁTICO SOBRE A COGNIÇÃO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS", protocolada sob o CEUA nº 3064221121 (ID 001985), sob a responsabilidade de **Renata Maria Lataro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 08/02/2022.

We certify that the proposal "The impact of plasma cholesterol on spontaneously hypertensive rats cognition.", utilizing 30 Heterogenics rats (30 males), 39 Isogenic rats (33 males and 6 females), protocol number CEUA 3064221121 (ID 001985), under the responsibility of **Renata Maria Lataro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 02/08/2022.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [02/2022](#) a [02/2025](#) Área: [Ciências Fisiológicas](#)

Origem:	Biotério Central		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 12 a 14 semanas N: 30
Linhagem:	Wistar		Peso: 180 a 240 g
Origem:	CCB - Biotério do Laboratório de Genética do Comportamento		
Espécie:	Ratos isogênicos	sexo: Machos	idade: 12 a 14 semanas N: 33
Linhagem:	Ratos espontaneamente hipertensos		Peso: 180 a 240 g
Origem:	CCB - Biotério do Laboratório de Genética do Comportamento		
Espécie:	Ratos isogênicos	sexo: Fêmeas	idade: 12 a 14 semanas N: 6
Linhagem:	Ratos espontaneamente hipertensos		Peso: 180 a 240 g

Local do experimento: Os experimentos serão realizados no Laboratório de Fisiologia Cardiometabólica Aplicada ao Exercício, localizado no Departamento de Ciências Fisiológicas CCB/UFSC

Florianópolis, 01 de junho de 2022

Luciana A Honorato

Luciana Aparecida Honorato
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Vanessa Rafaella Foletto da Silva

Vanessa Rafaella Foletto da Silva
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

