

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**JÉSSYCA MILENE RIBEIRO**

**NITRITO DE SÓDIO NO TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL:  
ESTUDO EXPERIMENTAL E REVISÃO DE EVIDÊNCIAS CLÍNICAS**

**ALFENAS/MG**

**2025**

JÉSSYCA MILENE RIBEIRO

**NITRITO DE SÓDIO NO TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL:  
ESTUDO EXPERIMENTAL E REVISÃO DE EVIDÊNCIAS CLÍNICAS**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Speroni Ceron

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Larissa Helena Lobo Torres Pacheco

ALFENAS/MG  
2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Ribeiro, Jéssyca Milene Ribeiro .

Nitrito de Sódio no tratamento da Hipertensão Arterial: Estudo experimental e Revisão de evidências clínicas / Jéssyca Milene Ribeiro Ribeiro. - Alfenas, MG, 2025.

100 f. : il. -

Orientador(a): Carla Speroni Ceron.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Estresse oxidativo. 2. Hipertensão Renovascular. 3. Hipertensão Pulmonar. 4. Segurança. 5. Nitrito de Sódio . I. Ceron, Carla Speroni, orient.  
II. Título.

**JÉSSYCA MILENE RIBEIRO****"NITRITO DE SÓDIO NO TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL: ESTUDO EXPERIMENTAL E REVISÃO DE EVIDÊNCIAS CLÍNICAS"**

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 22 de maio de 2025.

Profa. Dra. Carla Speroni Ceron  
Presidente da Banca Examinadora  
Instituição: Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Gabriel Tavares do Vale  
Instituição: Universidade do Estado de Minas Gerais

Dra. Rafaela Figueiredo Rodrigues  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Maria Rita Rodrigues  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Carla Speroni Ceron, Usuário Externo**, em 22/05/2025, às 17:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1520486** e o código CRC **97A745A4**.

***Aos meus pais,***

Por tudo o que fizeram por mim, ninguém merece mais. Amo vocês

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus e à Virgem Maria por estarem sempre ao meu lado. Foram meu sustento, abrigo e guia desde o começo. Que eu saiba ser pequena, para que Vocês cresçam em mim.

Aos meus pais, José e Lenilda, meu amor e reconhecimento. Obrigada por serem meu alicerce, por cada renúncia, palavra de incentivo e cuidado silencioso. Tudo o que sou carrega a força, os valores e o amor que aprendi com vocês.

Aos meus irmãos, Luiz Fernando e Júnior, minha gratidão por cada gesto de carinho, pelo cuidado constante e pelos momentos de leveza. Vocês são a minha força.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Ceron. Obrigada pela generosidade, pelo cuidado, pela escuta atenta e pelos valiosos ensinamentos. Levo comigo sua presença como uma inspiração constante, exemplo de pesquisadora e de ser humano. Sua orientação sensível e precisa fez toda a diferença na minha formação. Obrigada, de coração, por tanto.

À minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Larissa Helena Torres, agradeço com muito amor por todo o apoio, disponibilidade e olhar atento ao longo dessa caminhada. É uma honra tê-la como exemplo e parte dessa trajetória.

Aos amigos do Laboratório, em especial Carol e Alessandra, pela parceria, amizade e aprendizados que foram além da ciência. Agradeço profundamente por tudo.

Aos queridos Gustavo e Karla, por estarem ao meu lado nos momentos difíceis e celebrarem comigo os dias leves, com amizade e acolhimento constantes.

Aos professores do LAFEC, minha profunda gratidão por cada ensinamento, por toda a orientação e por estarem sempre presentes.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ellen Rizzi e sua aluna Thaís Ribeiro, por me receber em seu laboratório na UNAERP com generosidade e confiança, oferecendo um ambiente acolhedor e uma rica troca de conhecimentos.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Tanus e à Dr.<sup>a</sup> Sandra Conde Tella, por me receberem na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto com disponibilidade e gentileza.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Borges de Araújo Paula, agradeço pela colaboração e pela abertura do seu laboratório, e à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isarita Martins Sakakibara e sua aluna Thalita Ramos, pela valiosa colaboração.

Ao Prof. Dr. Wanderson e à Técnica Carol, da Universidade Federal de Ouro Preto, meu agradecimento pela valiosa ajuda e orientação na área de histologia.

Ao Prof. Dr. Tiago Reis, pela orientação atenciosa na realização da revisão de escopo, sempre com paciência, disponibilidade e dedicação ao meu trabalho.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fabi, meu sincero agradecimento por toda a dedicação, atenção e carinho com que me acolheu ao longo desses anos.

À Universidade Federal de Alfenas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, meu reconhecimento pela oportunidade de crescimento intelectual e profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro para a realização da pesquisa.

Se sou melhor hoje, é graças à generosidade e ao conhecimento que cada um de vocês compartilhou comigo ao longo dessa jornada.

## RESUMO

A redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) é comum em diferentes tipos de hipertensão, incluindo a essencial (HE), pulmonar (HP) e renovascular (HR). Como o nitrito de sódio (NS) pode ser reciclado em NO, este estudo foi dividido em dois capítulos complementares que tem como objetivos: 1) avaliar os efeitos do NS nos danos renais causados pela HR no modelo 2 rins um clipe (2R1C); 2) mapear na literatura científica os efeitos do NS no tratamento da HE e HP em humanos. Na primeira etapa, a HR foi induzida em ratos Wistar pelo modelo 2R1C. Após 2 semanas, os animais receberam tratamento com NS por gavagem (1 ou 15 mg/kg/dia) por 4 semanas. A dose de 15 mg/kg/dia reduziu a pressão arterial e melhorou a função renal (ureia e creatinina). Além disso, essa dose reverteu alterações estruturais renais, como o aumento do volume glomerular e a glomerulosclerose e reduziu o infiltrado inflamatório no rim contralateral. Ambas as doses de NS reduziram a produção de espécies reativas de oxigênio. A dose mais baixa restaurou a atividade da superóxido dismutase no rim esquerdo e a mais alta restaurou a catalase em ambos os rins e os níveis de glutatona reduzida no rim contralateral. A peroxidação lipídica foi revertida com a dose de 15 mg/kg/dia. Além disso, a atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2), aumentada pela hipertensão, foi reduzida no rim direito. Não houve alteração de metemoglobina. Os resultados indicam que o tratamento com 15mg/kg/dia de NS atenuou a pressão arterial, melhorou a função, inflamação e a estrutura renal, reduziu MMP-2 no rim contralateral e fortaleceu as defesas antioxidantes. Na segunda etapa, foi realizada uma revisão de escopo para mapear a eficácia e segurança do uso de NS em pacientes com HE e HP. Foram analisados nove estudos clínicos extraídos das bases de dados: MEDLINE (PubMed), EMBASE, Scopus, Web of Science e LILACS. Os estudos incluídos tinham amostras entre 5 e 36 pacientes e utilizavam doses de NS variando entre 240 µg/kg/h e 325 mg. Cinco estudos mostraram resultados positivos no tratamento da HE, enquanto quatro sugeriram eficácia e segurança em HP (exceto no grupo 1). Contudo, um estudo indicou possíveis efeitos adversos associados ao uso de doses mais altas. As limitações dos estudos sugerem que as evidências atuais não são suficientes para confirmar de forma conclusiva a eficácia e segurança do NS.

**Palavras - chave:** Hipertensão renovascular, estresse oxidativo, rim,  
Hipertensão arterial, Hipertensão Pulmonar, Nitrito de Sódio,  
Segurança, Efeitos adversos

## ABSTRACT

Reduced bioavailability of nitric oxide (NO) is common across different types of hypertensions, including essential hypertension (EH), pulmonary hypertension (PH), and renovascular hypertension (RVH). Since sodium nitrite (SN) can be recycled into NO, this study was divided into two complementary chapters with the following objectives: (1) to evaluate the effects of SN on kidney damage caused by RVH in the two-kidney, one-clip (2K1C) model; and (2) to map, in the scientific literature, the effects of SN in the treatment of EH and PH in humans. In the first stage, RVH was induced in Wistar rats using the 2K1C model. After two weeks, the animals were treated with SN via gavage (1 or 15 mg/kg/day) for four weeks. The 15 mg/kg/day dose reduced blood pressure and improved renal function (urea and creatinine levels). Additionally, this dose reversed structural kidney changes such as increased glomerular volume and glomerulosclerosis and reduced inflammatory infiltrate in the contralateral kidney. Both doses of SN reduced the production of reactive oxygen species. The lower dose restored superoxide dismutase activity in the left kidney, while the higher dose restored catalase activity in both kidneys and increased reduced glutathione levels in the contralateral kidney. Lipid peroxidation was reversed with the 15 mg/kg/day dose. Furthermore, the activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), which was increased by hypertension, was reduced in the right kidney. No changes in methemoglobin levels were observed. These results indicate that treatment with 15 mg/kg/day of SN lowered blood pressure, improved renal function, inflammation, and structure, reduced MMP-2 in the contralateral kidney, and enhanced antioxidant defenses. In the second stage, a scoping review was conducted to map the efficacy and safety of SN use in patients with EH and PH. Nine clinical studies were analyzed, sourced from the following databases: MEDLINE (PubMed), EMBASE, Scopus, Web of Science, and LILACS. The included studies had sample sizes ranging from 5 to 36 patients and used SN doses ranging from 240 µg/kg/h to 325 mg. Five studies showed positive results in treating EH, while four suggested efficacy and safety in PH (except for group 1). However, one study indicated potential adverse effects associated with higher doses. The limitations of the studies suggest that current evidence is insufficient to conclusively confirm the efficacy and safety of sodium nitrite.

**Keywords:** Renovascular hypertension, oxidative stress, kidney, arterial hypertension, pulmonary hypertension, sodium nitrite, safety, adverse effects

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da MMP-2 .....	23
Figura 2 - Mecanismos de ativação da MMP-2 .....	24
Figura 3 - Desenho experimental.....	30
Figura 4 - Pressão arterial sistólica (mmHg).....	39
Figura 5 - Peso corporal (g).....	39
Figura 6 - Peso do rim (g).....	40
Figura 7 - Níveis de Nitrito ( $\mu\text{mol/L}$ ) plasmáticos.....	41
Figura 8 - Ureia e creatinina plasmática (mg/dL).....	42
Figura 9 - % de Metemoglobina.....	42
Figura 10 – Hematócrito.....	43
Figura 11 - Histologia do rim de ratos Wistar Sham e 2R1C.....	44
Figura 12 - Fluorescência de ERO <i>in situ</i> (DHE).....	47
Figura 13 - Níveis de $\text{H}_2\text{O}_2$ (U/mg proteína).....	48
Figura 14 - Atividade da SOD (U/mg proteína).....	49
Figura 15 - Atividade da Catalase (U/mg proteína).....	50
Figura 16 - Níveis de GSH ( $\mu\text{g/mg}$ proteína).....	50
Figura 17 - Níveis de TBARS (nmol/mg proteína).....	52
Figura 18 - Atividade gelatinolítica da MMP-2 – Rim direito.....	53
Figura 19 - Atividade gelatinolítica da MMP-2 – Rim esquerdo.....	54
Figure 1 – Fluxogram PRISMA-ScR.....	67
Figure 2 – Source of included studies.....	67
Figure 3 – Adverse effects observed by dose and route of administration of sodium nitrite.....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrometros
µmol	Micromol
2R1C	Dois rins um clipe
ADRs	Adverse drug reactions
ANG II	Angiotensina II
ANOVA	Análise de Variância
AT1	Receptores de angiotensina tipo 1
CAT	Catalase
DP	Diastolic blood pressure
DK	Denmark
DL50	Dose letal média
DRC	Doença renal crônica
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
g	Gramas
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSH	Glutathione dissulfeto
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HE	Hipertensão Essencial
HP	Hipertensão Pulmonar
HR	Hipertensão Renovascular
JBI	Joanna Briggs Institute's
Kg	Quilogramas
MAP	Media arterial pressure

MDA	Malonaldeído
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
MM	Massa molecular
MMP-2	Metaloproteinase de matriz tipo 2
MMPs	Metaloproteinase de matriz
mPAP	Media artery pulmonary pressure
MtHb	Metemoglobina
N	Absolute number of participants
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NaNO <sub>2</sub>	Sodium nitrite
NR	Not reported
NS	Nitrito de Sódio
NO	Óxido nítrico/Nitric oxide
NOS	Óxido nítrico sintase
NOX	NADPH-oxidases
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión superóxido
OONO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PAD	Diastolic pulmonary pressure
PAH	Pulmonary arterial hypertension
PAS	Systolic pulmonary pressure
PBS	Tampão fosfato
PCWP	Pulmonary capillary wedge pressure
PDE5i	Phodiesterase type 5 inhibitors

pH	Potencial hidrogeniônico
PRISMA ScR	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses for Scoping Reviews
PVR	Pulmonary vascular resistance
RAP	Right atrial pressure
RPM	Rotação por minuto
RVDP	Right ventricular diastolic pressure
RVSP	Right ventricular systolic pressure
SDS	Duodecil sulfato de sódio
SPB	Systolic blood pressure
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TH	Thailand
TIMP	Inibidores teciduais das MMPs
USA	United States
XOR	Xantina oxirredutase
WHO	World Health Organization

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
2.1	HIPERTENSÃO .....	19
2.2	NITRITO DE SÓDIO NAS HIPERTENSÕES RENOVASCULAR E PULMONAR.....	20
2.3	ESTRESSE OXIDATIVO E METALOPROTEINASES NA HIPERTENSÃO ..	22
2.4	SEGURANÇA DO NITRITO DE SÓDIO.....	25
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>PRIMEIRA ETAPA – EFEITO DO NITRITO SÓDIO NO DANO RENAL DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS, 1-CLÍPE (2R1C) EM RATO .....</b>	<b>28</b>
4.1.	OBJETIVOS.....	28
4.1.1.	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>28</b>
4.1.2.	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>29</b>
5.1	ANIMAIS.....	29
5.2	HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA PELA TÉCNICA DE GOLDBLATT ..	29
5.3	AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA E PESO CORPORAL	30
5.4	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRITO.....	31
5.5	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL.....	31
5.6	DOSAGEM DE METEMOGLOBINA EM SANGUE .....	32
5.7	HEMATÓCRITO.....	32
5.8	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS .....	33
5.9	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PROTEÍCA .....	34
5.10	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO .....	34
<b>5.10.1</b>	<b>Determinação de espécies reativas de oxigênio in situ.....</b>	<b>34</b>
<b>5.10.2</b>	<b>Avaliação dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.....</b>	<b>35</b>
<b>5.10.3</b>	<b>Avaliação da atividade tecidual da superóxido dismutase .....</b>	<b>35</b>
<b>5.10.4</b>	<b>Avaliação da atividade da catalase.....</b>	<b>36</b>
<b>5.10.5</b>	<b>Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida.....</b>	<b>36</b>
<b>5.10.6</b>	<b>Avaliação da peroxidação lipídica .....</b>	<b>36</b>
5.11	Zimografia em gel .....	37
5.12	Análise estatística .....	38
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
6.1	AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA.....	39
6.2	EVOLUÇÃO PONDERAL DOS RATOS .....	39

6.3	AVALIAÇÃO DO PESO DOS RINS .....	40
6.4	DETERMINAÇÃO CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRITO.....	41
6.5	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL .....	42
6.6	DOSAGEM DE METEMOGLOBINA.....	43
6.7	HEMATÓCRITO .....	44
6.8	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS.....	45
6.9	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO .....	46
<b>6.9.1</b>	<b>Determinação de ero in situ .....</b>	<b>46</b>
<b>6.9.2</b>	<b>Avaliação dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no córtex renal .....</b>	<b>47</b>
6.10	AVALIAÇÃO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICO.....	49
<b>6.10.1</b>	<b>Avaliação da atividade da superóxido dismutase .....</b>	<b>50</b>
<b>6.10.2</b>	<b>Avaliação da atividade da catalase .....</b>	<b>51</b>
<b>6.10.3</b>	<b>Avaliação níveis renais de glutathiona reduzida.....</b>	<b>52</b>
6.11	AVALIAÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA .....	53
6.12	ZIMOGRÁFIA EM GEL.....	54
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>9</b>	<b>SEGUNDA ETAPA – EFFECTIVENESS AND SAFETY OF THE USE OF SODIUM NITRITE IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AND PULMONARY HYPERTENSION: A SCOPING REVIEW.....</b>	<b>67</b>
<b>10</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>84</b>
	Referencias.....	85
	Anexo A.....	99
	Anexo B .....	100

## 1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial é uma condição multifatorial definida pela elevação persistente da pressão arterial sistêmica, sendo um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e renais (McEvoy *et al.*, 2024). Estima-se que mais de um bilhão de pessoas sejam afetadas pela hipertensão no mundo, contribuindo para cerca de 10,8 milhões de mortes anuais, o que a caracteriza como um dos mais relevantes problemas de saúde pública global (WHO, 2023).

Dentre suas manifestações clínicas, destacam-se formas particularmente graves: a HR e a HP. A primeira decorre, em geral, da estenose da artéria renal, resultando em hipoperfusão renal crônica e subsequente ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, com efeitos deletérios como vasoconstrição sustentada, inflamação, estresse oxidativo e perda progressiva da função renal (Mannemuddhu *et al.*, 2020). A HP, por sua vez, é caracterizada pelo aumento anormal da pressão na circulação pulmonar e frequentemente culmina em disfunção do ventrículo direito e elevada mortalidade. Suas causas são diversas, incluindo doenças cardíacas, pulmonares e tromboembólicas, e sua classificação abrange múltiplos grupos etiológicos (Humbert *et al.*, 2023; Maron, 2023).

Apesar de distintos em sua etiologia, ambos os quadros compartilham um importante mecanismo fisiopatológico: a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Esse gás sinalizador é essencial para a regulação do tônus vascular, integridade endotelial, perfusão renal e modulação de processos inflamatórios e trombóticos. A deficiência de NO contribui significativamente para a disfunção endotelial observada na HR e pulmonar (Duric & Duric, 2024; Roumeliotis *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o nitrito de sódio (NS) tem despertado crescente interesse como um agente terapêutico promissor, devido à sua capacidade de atuar como fonte alternativa de NO, especialmente sob condições de hipóxia e estresse oxidativo — características frequentemente presentes nas formas mais graves de hipertensão. A conversão do nitrito em NO proporciona efeitos vasodilatadores, anti-inflamatórios e antitrombóticos, o que o torna um potencial

modulador da função vascular e renal em diferentes contextos patológicos (Lundberg *et al.*, 2008; Tejero *et al.*, 2019; Kuczeriszka & Wąsowicz, 2022).

Além desses efeitos, estudos têm demonstrado que o NS pode exercer ações benéficas adicionais, como a modulação do estresse oxidativo e a inibição da atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2), enzima associada ao remodelamento patológico da matriz extracelular e à progressão do dano tecidual em diversas doenças cardiovasculares e renais (Amaral *et al.*, 2019; Rizzi *et al.*, 2019a). Essas propriedades são especialmente relevantes em condições como a HR e pulmonar, nas quais a produção de NO endógeno está comprometida (Alqarni *et al.*, 2023; Benza *et al.*, 2024; D'Agostino *et al.*, 2024; Genovesi *et al.*, 2022; Kiowski *et al.*, 2021; Konukoglu & Uzun, 2016).

Contudo, apesar dos avanços experimentais e das evidências clínicas preliminares, ainda não há consenso sobre a eficácia e a segurança do NS como agente terapêutico para o manejo da hipertensão arterial, sobretudo em subgrupos específicos como pacientes com HP ou formas secundárias da doença. Além disso, o uso clínico dessa molécula levanta preocupações relevantes, como o risco de formação de meta-hemoglobina — que compromete o transporte de oxigênio — e a produção de espécies reativas de nitrogênio, como o peroxinitrito, com potencial citotóxico elevado (Radi, 2018; Elsherbini *et al.*, 2021).

Diante desse panorama, esta tese foi organizada em duas etapas complementares. A primeira etapa corresponde a um estudo experimental que investiga os efeitos do NS sobre a função renal e a atividade da MMP-2 em ratos com HR induzida pelo modelo dois rins, um clipe (2R1C), buscando esclarecer os mecanismos moleculares envolvidos na sua ação. A segunda parte consiste em uma revisão de escopo, cujo objetivo é mapear as evidências clínicas disponíveis sobre o uso do NS em pacientes com hipertensão arterial sistêmica ou pulmonar, abordando tanto sua eficácia na redução da pressão arterial quanto os aspectos relacionados à segurança do tratamento.

Com essa abordagem translacional — da pesquisa pré-clínica ao mapeamento do uso clínico —, esta tese busca contribuir para a compreensão dos potenciais benefícios e limitações do NS como alternativa terapêutica no tratamento de diferentes formas de hipertensão arterial.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 HIPERTENSÃO

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição crônica multifatorial que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, representando um dos principais desafios de saúde pública. No Brasil, dados da Organização Mundial da Saúde indicam que, em 2019, cerca de 50,7 milhões de adultos entre 30 e 79 anos eram hipertensos. A prevalência padronizada por idade foi de 45% entre os homens e 48% entre as mulheres — índices superiores à média global. Apesar disso, apenas 33% dos casos estavam com a pressão arterial efetivamente controlada. Estima-se que, com uma taxa de controle de 50%, aproximadamente 365 mil mortes poderiam ser evitadas até 2040, desde que 8,4 milhões de pessoas a mais recebam tratamento adequado (WHO, 2023).

A hipertensão pode ser classificada como essencial, quando sua causa específica não é identificada, ou secundária, quando está associada a uma etiologia definida. Dentre os tipos de hipertensão secundária, a hipertensão HR é a mais prevalente, sendo responsável por cerca de 75% dos casos (Nair & Vaqar, 2022; Textor, 2009). Estima-se que entre 10% e 35% dos pacientes hipertensos apresentem formas secundárias da doença (McEvoy *et al.*, 2024). A principal causa de HR é a estenose da artéria renal de origem aterosclerótica (aproximadamente 90% dos casos), seguida pela displasia fibromuscular e outras condições menos frequentes, como aneurismas e doença renal unilateral (Dalman & Coleman, 2023; Samadian *et al.*, 2017). A redução do fluxo sanguíneo renal leva à ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), aumentando a produção de angiotensina II (Ang II), que promove vasoconstrição, retenção de sódio e água, secreção de aldosterona e ativação simpática (Textor, 2009; Herrmann & Textor, 2019). Além de elevar a pressão arterial, a Ang II também exerce efeitos pró-inflamatórios e pró-fibróticos, contribuindo para glomeruloesclerose, fibrose túbulo-intersticial e, conseqüentemente, para a progressão da doença renal crônica (Dalman & Coleman, 2023; Nair & Vaqar, 2022; Wheatley *et al.*, 2009; Duric & Duric, 2024).

Os pacientes com HR frequentemente apresentam resistência ao tratamento medicamentoso, o que agrava ainda mais o risco de complicações renais (Duric & Duric, 2024; Pereira *et al.*, 2022).

A HP representa outra forma relevante da doença, afetando a circulação pulmonar e sendo caracterizada pelo aumento da pressão média na artéria pulmonar (PAPm) acima de 20 mmHg em repouso (Humbert *et al.*, 2023; Mocumbi *et al.*, 2024; Ruopp & Cockrill, 2022). Apesar das lacunas nos dados epidemiológicos globais, estima-se que a HP afete ao menos 1% da população mundial, com maior prevalência em países de baixa e média renda (Mocumbi *et al.*, 2024). A HP compreende um espectro clínico heterogêneo e é classificada em cinco grupos, segundo suas causas subjacentes: (Grupo 1) hipertensão arterial pulmonar idiopática ou hereditária; (Grupo 2) associada a doenças do coração esquerdo; (Grupo 3) decorrente de doenças pulmonares e/ou hipóxia; (Grupo 4) relacionada à obstrução crônica da vasculatura pulmonar; e (Grupo 5) com etiologias multifatoriais ou indefinidas (Boucly *et al.*, 2023; Johnson *et al.*, 2023). Em formas associadas à disfunção endotelial, como nos grupos 1 e 3, observa-se uma redução na biodisponibilidade do NO, devido à menor produção pela eNOS e ao consumo aumentado por espécies reativas de oxigênio (ERO). Esse desequilíbrio leva à queda da sinalização via guanosina monofosfato cíclico (cGMP), promovendo vasoconstrição sustentada, inflamação e remodelamento vascular progressivo (Tejero *et al.*, 2019; Humbert *et al.*, 2023).

## 2.2 NITRITO DE SÓDIO NAS HIPERTENSÕES RENOVASCULARE PULMONAR

O nitrito, antes considerado um subproduto inerte do metabolismo do NO, é hoje reconhecido como uma fonte alternativa e funcional de NO, especialmente em condições em que a via enzimática está comprometida (Gladwin *et al.*, 2005; Lundberg *et al.*, 2008). A via nitrato–nitrito–NO tem papel central na regulação dos níveis sistêmicos de NO, sendo o nitrito reduzido a NO por múltiplas vias,

como a hemoglobina (Cosby *et al.*, 2003), mioglobina (Rassaf *et al.*, 2007), xantina oxidoreductase (XOR) (Godber *et al.*, 2000; Millar *et al.*, 1998), polifenóis e prótons (Lundberg *et al.*, 1994; Peri *et al.*, 2005). Essa conversão é intensificada em situações de hipóxia e acidose, como na HP e renovascular, contribuindo para a sinalização celular, vasodilatação e adaptação ao estresse isquêmico (Nair & Vaqar, 2022; Lundberg *et al.*, 2008; Hsieh *et al.*, 2015; Jankov *et al.*, 2018).

No sistema renal, o NO participa da regulação da natriurese, diurese e da hemodinâmica renal, mantendo a perfusão medular e modulando processos inflamatórios (Mount e Power, 2006; Majid e Navar, 2001). A redução da sua biodisponibilidade está associada à hipertensão, menor excreção de sódio e agravamento de lesões isquêmicas renais (Martinez *et al.*, 2002). De forma análoga, no sistema respiratório, o NO endógeno regula o tônus vascular pulmonar, sendo liberado em resposta ao estresse de cisalhamento sobre o endotélio e promovendo vasodilatação por meio da ativação da guanilato ciclase e do aumento de GMPc, o que leva ao relaxamento do músculo liso (Mount e Power, 2006; Majid e Navar, 2001).

Nesse cenário, diversos estudos apontam o nitrito como uma alternativa eficaz para restaurar a biodisponibilidade de NO. Em modelos de hipertensão 2R1C, a administração oral de NS reduziu a pressão arterial por meio da formação de S-nitrosotióis gástricos (Pinheiro *et al.*, 2015) e manteve efeito hipotensivo mesmo sem a circulação enterosalivar de nitrato (Pinheiro *et al.*, 2016). Além disso, o NS reverteu a remodelação vascular associada à hipertensão, possivelmente via redução da atividade da NADPH oxidase e geração de NO mediada por xantina oxidase (Rizzi *et al.*, 2019).

No pulmão, o NS também tem mostrado efeitos terapêuticos relevantes. Hunter *et al.* (2004) demonstraram que o NS inalado é convertido em NO no tecido pulmonar, elevando progressivamente os níveis de NO exalado, mesmo após a interrupção da administração, o que sugere uma liberação sustentada. Jankov *et al.* (2018c) mostraram que o NS inalado foi mais eficaz do que o NO inalatório no tratamento da HP induzida por hipóxia crônica, aumentando os níveis de NO nos pulmões sem promover nitração proteica e melhorando os parâmetros da doença. Complementarmente, Cortés-Puch *et al.* (2019)

observaram que o nitrito inalado produziu liberação prolongada de NO exalado por mais de 5 horas em modelo canino de HP aguda, associada a aumento dos níveis de nitrato e nitrito no sangue, indicando efeito sustentado na biodisponibilidade de NO.

### 2.3 ESTRESSE OXIDATIVO E METALOPROTEINASES NA HIPERTENSÃO RENOASCULAR

A HR, especialmente no modelo experimental 2R1C, está fortemente associada à ativação exacerbada do SRAA e ao conseqüente aumento da produção de ERO e de nitrogênio (ERN) (de Bhailis & Kalra, 2022). A angiotensina II (Ang II), principal efector do SRAA, atua sobre receptores do tipo 1 (AT1), estimulando a atividade da NADPH oxidase e seus homólogos, altamente expressos em diferentes regiões do rim (Welch *et al.*, 2003). Essa ativação leva à produção exacerbada de ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e, por meio da interação com o óxido nítrico (NO), à formação de peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), uma ERN altamente reativa (Alawi *et al.*, 2021a; Boshra & Abbas, 2017; Fujii *et al.*, 2005).

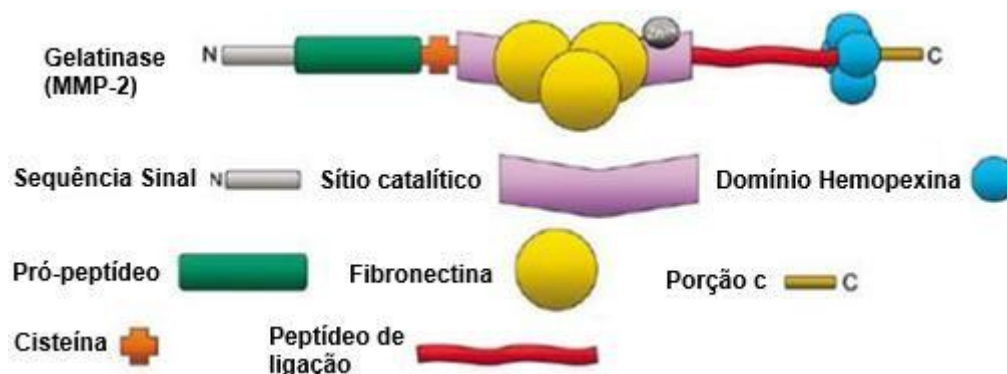
Estudos demonstram que mesmo a infusão de baixas doses de Ang II é capaz de dobrar a atividade da NADPH oxidase e elevar significativamente os níveis de  $O_2^-$  (Rajagopalan *et al.*, 1996). O acúmulo dessas espécies reativas compromete a função vascular ao reduzir a biodisponibilidade de NO e favorecer a ação de vasoconstritores como a própria Ang II e a endotelina-1. Além disso, o  $ONOO^-$  induz nitrosilação de proteínas e peroxidação lipídica, promovendo dano celular e disfunção endotelial (Griendling *et al.*, 2021; Higashi *et al.*, 2014). A sobrecarga oxidativa é evidenciada por marcadores como o 8-isoprostano  $PGF2\alpha$  e o malonaldeído, além da maior imunorreatividade para nitrotirosina nos rins de animais com hipertensão 2R1C (Griendling *et al.*, 2021; Higashi *et al.*, 2014).

O organismo dispõe de um sistema de defesa antioxidante enzimático, composto por enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e

glutathiona peroxidase (GPx), que promovem a neutralização das ERO. A SOD converte  $O_2^-$  em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que é subsequentemente degradado pela CAT e GPx. No entanto, a atividade dessas enzimas encontra-se reduzida no córtex de rim de ratos submetidos ao modelo 2R1C, contribuindo para o agravamento do estresse oxidativo (Miguel-Dos-Santos *et al.*, 2021).

Paralelamente, as alterações oxidativas influenciam diretamente a atividade de metaloproteinasas de matriz (MMPs), especialmente a MMP-2, uma gelatinase envolvida na remodelação da matriz extracelular. A MMP-2 é sintetizada como zimogênio (forma latente de ~72 kDa), sendo ativada por clivagem proteolítica ou por mecanismos dependentes de ERO e ERN. O peroxinitrito, em especial, pode ativar a MMP-2 ao promover a ruptura da interação do grupo tiol da cisteína do pró-peptídeo com o zinco no sítio catalítico, mantendo a enzima ativa mesmo sem clivagem do pró-peptídeo (Donnini *et al.*, 2008; Frears *et al.*, 1996) (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura da MMP-2



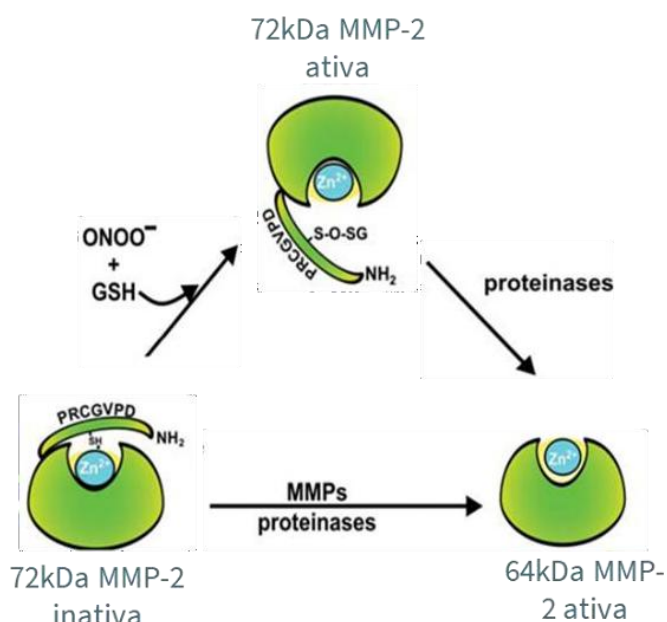
Fonte: Adaptado de Chow, Cena et al. 2007

Legenda: A enzima apresenta um pró-peptídeo inibitório ligado ao sítio catalítico contendo zinco, com domínio hemopexina e três repetições de fibronectina tipo II, essenciais para ligação à gelatina/colágeno.

Além disso, a própria MMP-2, quando ativada, pode estimular vias de sinalização intracelular que elevam a formação de ERO, em um mecanismo de retroalimentação observado, por exemplo, em aortas isoladas de coelhos (Prado

*et al.*, 2018) (Figura 2).

Figura 2 - Mecanismos de ativação da MMP-2.



Fonte: Adaptado de Kandasamy *et al.*, 2010.

Legenda: A clivagem proteolítica do pró-peptídeo gera a forma ativa de 64 kDa. Alternativamente, a exposição ao peroxinitrito ativa a enzima sem clivagem, mantendo-a na forma de 72 kDa.

Assim, o estresse oxidativo reduz a biodisponibilidade de NO, favorece a geração de ONOO<sup>-</sup> e contribui para a ativação da MMP-2, estabelecendo um ciclo patológico que promove a remodelação tecidual e a progressão da lesão renal na HR (Tousoulis *et al.*, 2011; Roumeliotis *et al.*, 2020).

Fármacos com ação antioxidante têm demonstrado potencial terapêutico nesse cenário, por inibirem a formação de ONOO<sup>-</sup>, reduzirem a ativação da MMP-2 e atenuarem seus efeitos deletérios sobre o parênquima renal. Por exemplo, o tempol, um mimético da SOD, foi eficaz em reduzir a produção de ERO, melhorar a função renal e atenuar a hipertensão no modelo 2R1C (Campos *et al.*, 2011). Da mesma forma, o extrato de sementes de açaí reduziu o estresse oxidativo, restaurou os níveis de NO e atenuou a lesão renal induzida pela HR (Da Costa *et al.*, 2017), reforçando a relevância da modulação do equilíbrio redox na proteção da função renal e cardiovascular.

## 2.4 SEGURANÇA DO NITRITO DE SÓDIO

Estudos iniciais com NS foram associados à formação de metemoglobina e à produção de N-nitrosaminas potencialmente cancerígenas (Oppé, 1951; Thwaites, 1956). A metemoglobinemia resulta da oxidação do ferro na molécula de hemoglobina ( $Fe^{2+}$ ) para sua forma férrica ( $Fe^{3+}$ ), formando a metemoglobina, que é incapaz de transportar oxigênio. A exposição sistêmica a altas doses de nitrito pode levar à produção significativa de metemoglobina, comprometendo o transporte de oxigênio e, em casos graves, resultando em hipóxia tecidual e morte (Pluta *et al.*, 2005; Rozanova *et al.*, 2012). Já a formação de N-nitrosaminas, como a N-nitrosodimetilamina (NDMA), ocorre por meio da nitrosação de aminas secundárias, especialmente em condições de pH ácido, como no estômago. A NDMA é um composto altamente carcinogênico em modelos animais, tendo sido associada à hepatocarcinogênese (Jensen, 2003).

Apesar dessas preocupações, estudos mais recentes têm revelado potenciais efeitos terapêuticos do NS em diversas condições clínicas. O NS tem sido explorado como vasodilatador, broncodilatador, no manejo do vasoespasma cerebral pós-hemorragico e no infarto do miocárdio (Webb *et al.*, 2004; Pluta *et al.*, 2005; Ansari *et al.*, 2017). Além disso, dados pré-clínicos demonstram que o NS pode reduzir a hipertrofia ventricular direita, melhorar o fluxo sanguíneo e modular a inflamação em modelos de HP, isquemia-reperfusão e lesão vascular (Hughan *et al.*, 2020; Dejam *et al.*, 2007).

Embora as doses terapêuticas em modelos animais tenham demonstrado efeitos benéficos, os dados de segurança ainda são limitados. Estudos de toxicidade repetida com a formulação inalável de NS (AIR001) revelaram metemoglobinemia dose-dependente, além de alterações como esplenomegalia, aumento do hematócrito e sinais comportamentais sugestivos de hipóxia crônica (Borlaug *et al.*, 2016). Além disso, o potencial de formação de N-nitrosaminas em exposições crônicas ainda é motivo de preocupação.

Portanto, apesar dos resultados promissores observados em estudos experimentais, o perfil de segurança do NS em tratamentos para hipertensão

ainda requer investigação cuidadosa. A possibilidade de efeitos adversos não pode ser descartada.

Como dito, a HR é uma das principais causas de hipertensão secundária e, no modelo experimental de 2R1C, está associada a alterações renais mediadas por estresse oxidativo e ativação da MMP-2. O NS tem demonstrado efeitos anti-hipertensivos e antioxidantes, incluindo a capacidade de reduzir a atividade da MMP-2 em tecidos vasculares e cardíacos. No entanto, seu impacto sobre os rins no contexto da HR ainda não foi elucidado. Assim, o primeiro objetivo desta tese é investigar se o tratamento com NS é capaz de atenuar as alterações morfológicas e funcionais renais induzidas pela HR no modelo 2R1C.

Além disso, considerando a crescente evidência do papel do NS como potencial fonte NO em condições de hipóxia e estresse oxidativo — fatores comuns nas formas renovascular e pulmonar da hipertensão — e frente aos resultados encorajadores observados em estudos pré-clínicos, torna-se necessário avaliar sua aplicabilidade clínica. Entretanto, ainda existem incertezas quanto à eficácia e segurança do NS em humanos, especialmente em subgrupos com hipertensão secundária ou pulmonar, que podem responder de forma distinta ao tratamento. Nesse contexto, o segundo objetivo desta tese é realizar uma revisão de escopo para mapear sistematicamente as evidências disponíveis sobre o uso clínico do NS em pacientes com hipertensão arterial sistêmica ou pulmonar, com ênfase em sua efetividade na redução da pressão arterial e nos principais aspectos relacionados à segurança terapêutica.

### 3 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que a HR é uma das maiores causas de hipertensão secundária. Em modelos animais de HR, como o 2R1C, são observadas alterações no tecido e na função renal e o estresse oxidativo e a ativação de proteases como as MMPs parecem contribuir para tais alterações. Sabe-se, ainda, que o tratamento de animais hipertensos com baixas doses de NS apresenta efeitos anti-hipertensivo e antioxidante, que parecem levar a uma diminuição da atividade da MMP-2 em tecidos vasculares e cardíaco. No entanto, o efeito renal da administração de NS ainda não é conhecido no modelo 2R1C de HR.

Complementarmente, embora estudos pré-clínicos demonstrem resultados promissores, a aplicação clínica do NS no tratamento da hipertensão ainda é pouco explorada, com evidências limitadas e heterogêneas quanto à eficácia, segurança e vias de administração. A realização de uma revisão de escopo é, portanto, relevante para mapear e sintetizar as evidências clínicas existentes sobre o uso do NS na hipertensão arterial sistêmica e pulmonar, identificando lacunas no conhecimento e orientando futuras investigações. A articulação entre os achados experimentais e os dados clínicos disponíveis permitirá uma análise translacional mais robusta sobre o uso do NS como agente anti-hipertensivo.

**Assim, a hipótese dessa tese é que a HR 2R1C leve a alterações morfológicas renais e na função renal de ratos Wistar, por aumento de estresse oxidativo e ativação de MMP-2 e que o tratamento desses animais com NS na dose de 1 e 15mg/kg/dia pode atenuar essas alterações. Além disto, esperamos que as evidências sobre a eficácia e segurança do uso de NS no tratamento da hipertensão e HP disponíveis na literatura mostrem que ele é seguro e eficaz.**

## **4 PRIMEIRA ETAPA – EFEITO DO NITRITO DE SÓDIO NO DANO RENAL DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS, 1-CLIQUE (2R1C) EM RATOS**

### **4.1 OBJETIVOS**

#### **4.1.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos do tratamento com diferentes doses de NS na função renal e dano tecidual renal em ratos Wistar submetidos ao modelo de HR 2R1C;

#### **4.1.2 Objetivos específicos**

- a) Avaliar a pressão arterial, peso e função renal dos animais 2R1C e o efeito do tratamento com diferentes doses de NS sobre eles;
- b) Avaliar as alterações morfológicas renais de animais 2R1C e o efeito do tratamento com diferentes doses de NS sobre elas;
- c) Avaliar o estresse oxidativo renal de animais 2R1C e o efeito do tratamento com diferentes doses de NS sobre ele;
- d) Avaliar a participação da MMP - 2 nas alterações renais dos animais 2R1C e o efeito do tratamento com diferentes doses de NS sobre ela;
- e) Avaliar o hematócrito e níveis de metemoglobina e de nitrito sanguíneos nas diferentes doses de NS utilizadas.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos machos Wistar (180 a 200 gramas), provenientes e fornecidos pelo Anilab Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda – Laboratórios Veterinários (Paulínia, SP). Os animais foram alojados em instalações específicas no biotério, em caixas de polietileno sob condições controladas de temperatura (22-25°C) e com ciclo alternado de 12 horas de claro/escuro. Durante todo o período experimental, os animais tiveram acesso irrestrito a água e alimento. O protocolo experimental foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP (Anexo A) e Universidade Federal de Alfenas, conforme parecer número 007/2020 e 0015/2023, respectivamente (Anexo B).

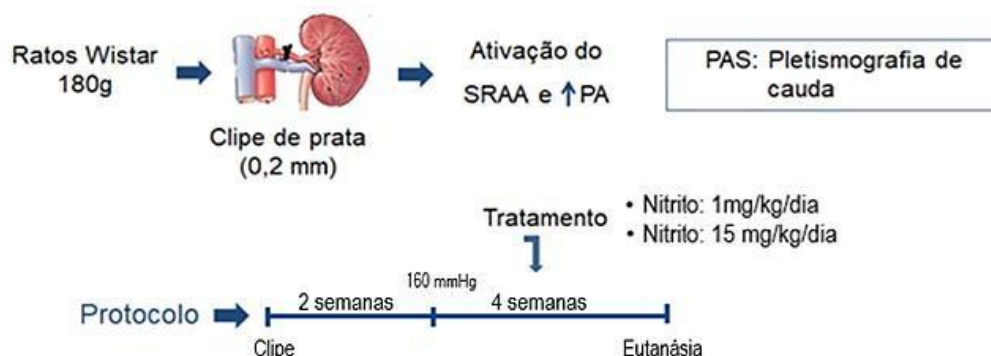
### 5.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA PELA TÉCNICA DE GOLDBLATT

A hipertensão arterial nos animais foi induzida pela técnica de Goldblatt, que promove a estenose da artéria renal esquerda por meio da inserção de um clipe de prata com abertura de 0,2 mm.

Para a realização do procedimento, ratos Wistar com peso corporal entre 180 e 200 g foram anestesiados por via intraperitoneal com Cetamina (100 mg/kg) e Xilazina (5 mg/kg). Em seguida, foi realizada a tricotomia, laparotomia abdominal e exposição da artéria renal esquerda, onde foi posicionado o clipe de prata. Animais do grupo controle (Sham) foram submetidos apenas à laparotomia, sem a introdução do clipe na artéria renal. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram suturados e monitorados até a completa recuperação. A pressão arterial sistólica foi avaliada semanalmente pelo método não invasivo da cauda, sendo considerados hipertensos os animais que apresentaram pressão arterial sistólica igual ou superior a 160 mmHg na segunda semana (14 dias) após a cirurgia. O protocolo experimental teve duração total de seis semanas (42 dias), com o início do tratamento com NS em duas doses a partir da segunda semana de hipertensão, estendendo-se por

quatro semanas consecutivas (28 dias) (Figura 3).

Figura 3 - Desenho experimental



Legenda: SRAA: sistema renina-angiotensina aldosterona, PA: Pressão Arterial. Fonte: Elaborada pela autora

O tratamento com NS foi realizado nas doses de 1mg/kg/dia considerada dose não anti-hipertensiva nesse modelo de HR (Rizzi *et al.*, 2019a), e de 15 mg/kg/dia, considerada uma dose anti-hipertensiva (Amaral *et al.*, 2019; Guimaraes *et al.*, 2018; Rizzi *et al.*, 2019a), administradas por gavagem. Um grupo de animais hipertensos receberam apenas veículo (água). Animais controles (Sham) foram tratados com veículo (água) ou NS. As soluções de NS foram preparadas diariamente e administradas logo em seguida nos animais. Os animais foram randomizados e distribuídos em 5 grupos (n=12/grupo):

- a) **2R1C + Nitrito 1 mg/kg/dia:** Animais com estenose de artéria renal tratados com NS na dose de 1 mg/kg/dia.
- b) **2R1C + Nitrito 15 mg/kg/dia:** Animais com estenose de artéria renal tratados com NS na dose de 15 mg/kg/dia.
- c) **2R1C + Água:** Animais com estenose de artéria renal tratados com o veículo (água).
- d) **Controle + Nitrito 15 mg/kg/dia:** Animais sem estenose de artéria renal tratados com NS na dose de 15 mg/kg/dia.
- e) **Controle + Água:** Animais sem estenose de artéria renal tratados com o veículo (água).

### 5.3 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA E PESO CORPORAL

Para monitorar a evolução da pressão arterial sistólica durante as seis

semanas de estudo, foi utilizada a técnica de pletismografia de cauda. O procedimento consistiu na colocação de um manguito acoplado a um transdutor de pressão em torno da cauda dos animais, permitindo a mensuração da pressão arterial. As variações de pressão foram registradas pelo sistema PowerLab 4/S analog-to-digital converter, um equipamento específico para aquisição e análise de dados fisiológicos. A avaliação foi realizada semanalmente e o peso corporal diariamente. Para minimizar o estresse, os animais foram previamente treinados no aparelho de pletismografia antes do início do experimento. Ao término do protocolo experimental, os animais foram eutanasiados por exsanguinação após anestesia com Cetamina (300mg/kg) e Xilazina (10mg/kg), via intraperitoneal. Amostras de sangue e córtex renal foram coletados para as análises histológicas e bioquímicas.

#### 5.4 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRITO

Para determinar as concentrações plasmáticas de nitrito, as alíquotas plasmáticas foram analisadas em duplicata utilizando o método de quimioluminescência dependente de ozônio. De forma resumida, para a quantificação de nitrito, 50  $\mu$ L de amostra de plasma foram injetados em 8 ml de uma solução ácida de iodo/iodeto (2g de iodeto de potássio e 1,3g de iodeto dissolvidos em 40 mL de água com 140 ml de ácido acético), o que resultou na formação de NO. Esse gás foi então transportado por nitrogênio até o analisador de NO (Sievers Modelo 280 NO Analyzer, Boulder, CO, EUA). Os dados obtidos foram processados utilizando o software Origin 8.5 (OriginLab, Northampton, MA, EUA). Os dados foram expressos como  $\mu$ mol/L (Montenegro *et al.*, 2011a).

#### 5.5 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

Para avaliar a função renal, foram dosados os níveis plasmáticos de ureia e creatinina. O sangue foi coletado em tubos contendo heparina, seguido de centrifugação a 3000 rpm por 15 min à 4°C para separação do plasma. A concentração de ureia foi determinada por meio do método enzimático

colorimétrico, utilizando os kits comerciais Labtest (Ref.: 27). A concentração de creatinina foi medida utilizando os kits comerciais Labtest (Ref.: 35). Os resultados foram expressos em mg/dL.

## 5.6 DOSAGEM DE METEMOGLOBINA EM SANGUE

A determinação de metemoglobina em amostras de sangue é fundamental para a avaliação de condições clínicas e ocupacionais relacionadas à exposição a agentes metemoglobinizantes, como o NS. Para cada 0,8 mL de sangue heparinizado, foram adicionados 2,2 mL de água destilada e 1 mL de solução tampão-fosfato. Em seguida, foi adicionada uma gota de Triton X-100, com agitação até a completa hemólise. Dessa mistura, 2,4 mL foram transferidos para uma cubeta (I) e 0,2 mL para outra cubeta (II). À cubeta II foram adicionados 2,2 mL da solução Reativo Ferricianeto-fosfato, composta por Ferricianeto-fosfato 5%, 7,0 mL de NaOH 0,5 mol/L e 10 mL de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 mol/L. As absorvâncias das cubetas I e II foram medidas em 632 nm, utilizando água como branco. Posteriormente, adicionaram-se 100  $\mu\text{L}$  da Solução de Cianeto Neutralizada (preparada com 1 mL de cianeto de sódio a 10% e 0,9 mL de ácido acético a 12%) a ambas as cubetas, com agitação. Após 1 minuto, realizaram-se novas leituras de absorvância, obtendo-se os valores III e IV (Hegesh *et al.*, 1970). A porcentagem de metemoglobina em relação à hemoglobina total foi calculada utilizando a fórmula abaixo:

$$\% \text{MtHb} = \frac{(AI - AIII) \times 100}{(AII - AIV) \times 12}$$

## 5.7 HEMATÓCRITO

Imediatamente após a eutanásia, o sangue foi coletado e transferido para um tubo capilar até preencher  $\frac{3}{4}$  de sua capacidade. Em seguida, uma das extremidades do capilar foi selada com massa apropriada e o tubo foi colocado em centrífuga para microhematócritos (211 Fanem) por 5 min. A interpretação dos resultados foi realizada utilizando uma escala de leitura de 0 a 100,

observando o ponto de separação entre a massa de eritrócitos e o plasma (Tombridge, 1968).

## 5.8 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

Utilizamos técnica histológica para analisar alterações morfológicas renais dos animais, este método visa a preparação dos tecidos destinados ao estudo à microscopia de luz. Para isso, utilizamos os corantes Hematoxilina e Eosina que são adequados para evidenciar características estruturais. O órgão foi embebido em solução de formol para fixação. Foram então incluídos em parafina para posterior secção. Foram obtidos cortes histológicos com 5µm de espessura em micrótomo (Biobase BK-2258). Blocos de parafina foram cortados em seções de 5 µm de espessura. Seções adjacentes foram coradas com hematoxilina/eosina (HE), para avaliação de glomérulos e infiltrado inflamatório, ou com Tricrômico de Masson, para quantificação da deposição de colágeno no tecido renal. As análises foram realizadas em 20 imagens por animal, obtidas em microscópio óptico (DM5000; Leica, Alemanha) com aumento de 400x, e processadas com o software QWin Image Processing and Analysis v3 5.1 (Leica). A contagem de glomérulos escleróticos foi feita a partir de 20 imagens de glomérulos por animal, considerando como escleróticos aqueles cuja área ultrapassava a média do grupo Sham em mais de 1,5 desvios-padrão. O índice de glomeruloesclerose foi calculado pela razão entre o número de glomérulos escleróticos e o número total de glomérulos analisados por animal. O volume glomerular foi posteriormente calculado utilizando a fórmula específica descrita a seguir.:

$$\text{Volume glomerular: } 1,5 \times \frac{1,38}{1,01}$$

onde 1,38 representa o coeficiente de forma e 1,01 representa o coeficiente de distribuição de tamanho (Giribabu *et al.*, 2017).

## 5.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PROTEÍCA

Para a realização dos ensaios abaixo descritos, a concentração proteica de cada amostra foi normalizada utilizando o método colorimétrico de Bradford. Inicialmente, foi triturada uma parte do córtex renal com posterior centrifugação do homogenato a 4°C à 6000 rpm por 40 minutos, para coleta do sobrenadante límpido. Em seguida, 5 µL da amostra foi transferida para uma placa de Elisa, juntamente com 200 µL do reagente de Bradford. Além disto, preparou-se uma curva padrão de albumina de soro bovino em concentrações crescentes (0,0625 mg/dL; 0,0125 mg/dL; 0,250 mg/dL; 0,5 mg/dL; 1,0 mg/dL e 2,0 mg/dL). Diluições da amostra também foram preparadas, para que a melhor absorbância fosse escolhida (Adaptado- XV Curso de Verão, Instituto de química, Universidade Federal de São Paulo, 2020).

## 5.10 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

### 5.10.1 Determinação de espécies reativas de oxigênio *in situ*

Os níveis de ERO nos rins foram analisados *in situ* utilizando a sonda dihidroetídeo (DHE, 10 µmol/L), que reage principalmente com o O<sub>2</sub><sup>-</sup> gerando fluorescência vermelha (Wang *et al.*, 2023)(Wang *et al.*, 2023). Para isso, os tecidos foram congelados em OCT, cortados em criostato (4 µm) e incubados com DHE por 30 minutos em câmara úmida. Após lavagem com PBS, as imagens da fluorescência foram capturadas com um microscópio de fluorescência a 400x (Leica Imaging Systems Ltda., Cambridge, England). A intensidade da fluorescência vermelha foi quantificada com o programa ImageJ, analisando 30 campos (120x50) por lâmina (n=5/animal). Os resultados foram expressos em unidades arbitrária de intensidade de fluorescência.

### 5.10.2 Avaliação dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

O substrato fluorogênico Amplex<sup>®</sup> Red (#A22188, Invitrogen, Carlsbad, CA) foi utilizado para medir a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no córtex renal. As amostras foram homogeneizadas em solução de Krebs (pH 7,4), seguidas de centrifugação a 1000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida, 50 µL de cada sobrenadante foram incubados no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente com 50 µL do reagente Amplex<sup>®</sup> Red. (10 µM). A fluorescência foi detectada com o espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse (λexcitação= 571 nm, λemissão= 585 nm). Os resultados foram expressos como µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/mg de proteína. (Carda *et al.*, 2015; Do Valle *et al.*, 2021).

### 5.10.2 Avaliação da atividade tecidual da Superóxido Dismutase

Para avaliar a atividade da SOD, uma porção do córtex renal foi triturado em solução PBS (pH 7,4) e centrifugada por 30 minutos a 4°C, a 3000 rpm. O sobrenadante (20 µL) foi transferido para tubos identificados e o volume foi completado com 230 µL de água destilada. Em seguida, 50 µL de hidroxilamina (0,1M), 100 µL de hipoxantina (0,1M) e 100 µL de xantina oxidase foram pipetados na solução. Essa mistura foi incubada em banho-maria a 37°C, no escuro, por 30 minutos. Após a incubação, foi adicionada 1mL da solução de ácido sulfanílico (0,12g), α-naftilenodiamina (0,002g) e ácido acético (25mL) por 20 minutos em ambiente escuro. A absorbância da amostra foi medida a 550 nm, com o aparelho calibrado usando o branco. Neste ensaio, o O<sub>2</sub><sup>-</sup> gerado pela ação da Xantina oxidase sobre a hipoxantina reage com a hidroxilamina formando íons nítricos, que, por sua vez, reagem com o ácido sulfanílico e a α-naftilenodiamina, produzindo um produto colorido cuja intensidade é proporcional à quantidade de O<sub>2</sub><sup>-</sup> produzido. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína, na qual 1 U corresponde à atividade da enzima capaz de inibir 50% da reação (Yanagui, 1984). (Oyanagui, 1984).

### 5.10.3 Avaliação da atividade da Catalase

Para determinar a velocidade de decomposição da Catalase no tecido renal, homogeneizou-se parte do córtex renal com 300  $\mu$ L PBS (pH 7,4) com posterior centrifugação por 30 min à 4°C a 3000 rpm. Então, foi adicionado 1  $\mu$ L do sobrenadante límpido a 1699  $\mu$ L de PBS e 300  $\mu$ L de peróxido de hidrogênio (100mM) em cubeta de quartzo com agitador magnético. Imediatamente após a adição dos reagentes, a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio foi monitorada durante 60 segundos. Para os cálculos, a absorbância final foi subtraída da absorbância inicial, expressando os resultados em unidades CAT/mg de proteína (Aebi, 1984).

### 5.10.4 Avaliação dos níveis de Glutathiona reduzida

O córtex renal dos animais foi triturado em tampão fosfato (PBS pH 7,4), seguido de centrifugação por 30 min à 4°C a 3000 rpm. Os sobrenadantes foram utilizados para o ensaio. Para verificar os níveis da glutathiona reduzida no tecido renal, 100  $\mu$ L do homogenato foi adicionado a 100  $\mu$ L de ácido tricloroacético (0,0125%), que permaneceu no gelo por 30 minutos e foi centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Após, 100  $\mu$ L da amostra com 200  $\mu$ L de Tampão Tris pH 8,0 (0,4M) e 5  $\mu$ L de Ácido 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoico) (10mM) foi adicionado em placas de Elisa. Quando o ácido entrou em contato com o grupo SH – tiol dos grupos sulfidrílicos, uma coloração amarelada foi produzida e lida em espectrofotômetro a 415 nm. Dividiu-se então, o valor encontrado pela concentração de proteína, expressando os resultados em GSH/mg de proteína (Simplicio *et al.*, 2015).

### 5.10.5 Avaliação da peroxidação lipídica

O MDA tem sido amplamente utilizado em pesquisas como marcador de peroxidação lipídica devido à sua fácil reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). A reação leva à formação de MDA-TBA 2, um conjugado que absorve no espectro visível em 540 nm e produz uma cor vermelho-rosa (Aguilar Diaz De

Leon & Borges, 2020). Para a avaliação do TBARS, utilizou-se o córtex renal triturado e centrifugado, 3000 rpm por 10 minutos a 4°C, com tampão de lise (1 ml de PBS 10x; 0,1 ml de igepal; 0,05 g de deoxicolato de sódio; 0,1 ml de dodecil sulfato de sódio (SDS) 10%; água destilada qsp 10 ml; 4 µL de fluoreto de fenilmetanossulfonil e 5 µL do inibidor de protease). Em seguida, 150 µL de amostra foram misturados com 25 µL de solução SDS 8,1%, e 1mL reagente de cor (ácido acético, NaOH e TBA 0,6%). A solução foi incubada em banho maria à 100°C por 1 hora. Logo após, as amostras foram resfriadas em banho de gelo por 10 min, a fim de parar a reação. A seguir, as amostras foram centrifugadas por 10 min à 8000 rpm 4°C. Por fim, as amostras foram analisadas em leitor de ELISA a 540 nm. Os resultados foram corrigidos com base na quantidade de proteína presente nas amostras. Os resultados foram expressos como nmol/mg proteína (TBARS assay Kit, Cayman Chemical Company MODIFICADO).

#### 5.11 ZIMOGRAFIA EM GEL

A MMP-2 presentes no córtex renal, foram quantificadas por meio da técnica de Zimografia em gel. Parte do córtex renal foi triturado e homogeneizado em tampão de extração (tampão CaCl<sub>2</sub> 10 mM, tris-HCl 50 mM, pH 7,4; contendo os inibidores de proteases NaF 50 mM, Ortov 50 mM, fenantrolina 20 mM; seguindo a seguinte proporção: 20 µL NaF, 20 µL Ortov, 50 µL fenantrolina para 910 µL de tampão). O homogenato foi centrifugado, e o sobrenadante coletado. A concentração de proteínas foi determinada utilizando o método de Bradford, descrito previamente.

A partir disso, foi calculado o volume correspondente a 25 µg de proteína, que foi transferido para tubos identificados e misturado com tampão de amostra não redutor 2x. Para a técnica, foram preparados o gel de separação 10% (7,308 mL água destilada; 3,75 mL da solução 40% acrilamida/bisacrilamida; 3,75 mL de tampão tris Cl/SDS 4X pH 8,8; 0,188 µL de gelatina; 100 µL de persulfato de amônio; 20 µL de TEMED) e o gel de empilhamento 3,9% (3,212 mL de água destilada; 0,488 µL da solução 40% acrilamida/bisacrilamida; 1,25 mL de tampão tris Cl/SDS 4X pH 6,8; 50 µL de persulfato de amônio; 10 µL de TEMED). As amostras previamente preparadas foram pipetadas nos géis inserindo junto a estes géis os pentes para a formação de poços. Antes de aplicar as amostras no

gel, elas foram colocadas em banho-maria por 15 minutos a 37°C. Após a corrida de eletroforese, os géis foram submetidos a banhos de Triton a 2% para remover o SDS presente, pois este mantém as enzimas desnaturadas ao expor seus sítios ativos. Em seguida, os géis foram incubados em solução de Tris-CaCl<sub>2</sub> 50 mM por 24 horas para promover a renaturação das enzimas ativação enzimática. Posteriormente, os géis foram fixados e corados com solução de Coomassie Blue 0,05% por 1,5 horas. Para visualizar as bandas formadas, os géis passaram por um processo de descoloração com solução de metanol (30%) e ácido acético (10%), trocando o descorante em três tempos: 15 minutos, 30 minutos, e 60 minutos. As formas ativas e proativas da MMP-2 foram identificadas por meio do peso molecular: 72 e 64 kDa. A quantificação das bandas foi realizada utilizando o software Image J (Castro *et al.*, 2008; Ceron *et al.*, 2010; Rizzi *et al.*, 2019b).

## 5.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

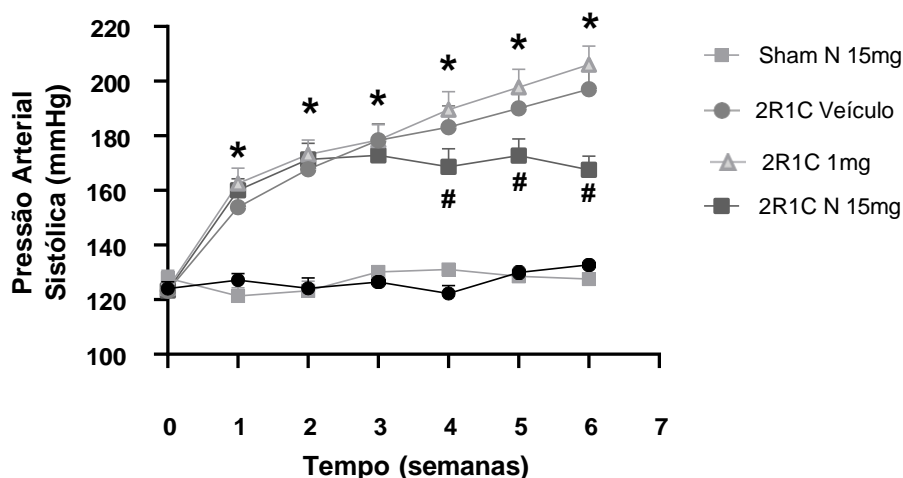
Os resultados obtidos nesse estudo foram analisados com ANOVA de duas (análise de variância) pós-teste de Sidak's ou uma análise de uma via. Foram considerados estatisticamente diferentes, valores com  $p < 0,05$ . Os gráficos foram representados com média  $\pm$  erro padrão da média.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

A partir da segunda semana pós-cirurgia, os animais do grupo 2R1C apresentaram hipertensão ( $p < 0,05$ ) (Figura 4). Apenas o tratamento com NS (15 mg/kg/dia) atenuou a pressão arterial em comparação ao grupo hipertenso ( $p < 0,05$ ).

Figura 4 - Pressão arterial sistólica (mmHg).



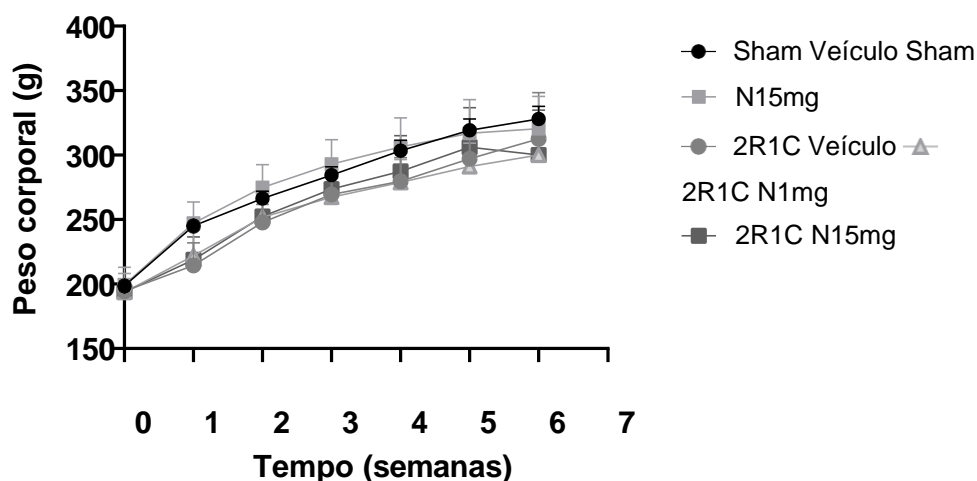
Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Legenda: Pressão arterial sistólica (mmHg) de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam NS em diferentes doses, por um período de 4 semanas. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n=7$  animais/grupo. \* $p < 0,05$  versus grupo Sham e Sham NS; # $p < 0,05$  versus grupo hipertenso. 2R1C: hipertenso, 2R1C N1mg: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15mg: hipertenso tratado com 15/mg/kg/dia.

### 6.2 EVOLUÇÃO PONDERAL DOS RATOS

Conforme ilustrado na Figura 5, não foram observadas diferenças significativas no ganho ponderal entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ).

Figura 5 - Peso corporal (g)



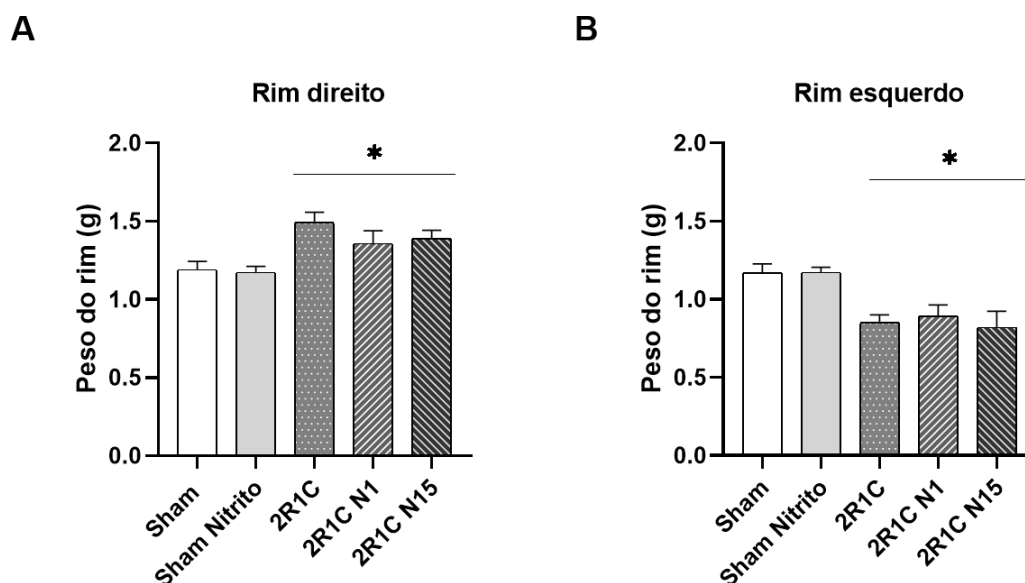
Fonte: Elaborado pela Autora (2024).

Legenda: Peso corporal (g) de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam NS em diferentes doses.  $n=7$  animais/grupo. Teste ANOVA *two way*, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p>0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1mg: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15mg: hipertenso tratado com 15/mg/kg/dia.

### 6.3 AVALIAÇÃO DO PESO DOS RINS

Conforme apresentado na Figura 6, foi observado um aumento significativo no peso do rim direito (g) no grupo hipertenso em comparação aos grupos Sham ( $p<0,05$ ). Por outro lado, os rins esquerdos dos grupos 2R1C e 2R1C tratados com NS (1 e 15 mg/kg/dia) exibiram uma redução significativa no peso em relação aos dos grupos Sham ( $p<0,05$ ).

Figura 6- Peso do rim (g)

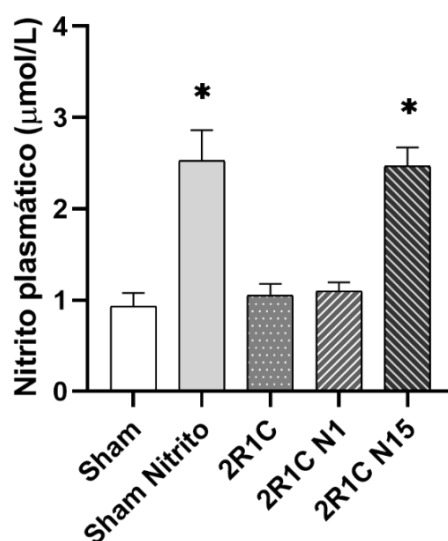


Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

Legenda: **(A)** Peso dos rins contralaterais (g) de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam NS em diferentes doses, por um período de 4 semanas. \* $p < 0,05$  versus rins direito - grupos Sham e Sham NS.  $n = 7$  animais/grupo. **(B)** Peso dos rins esquerdo (g) de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam NS em diferentes doses, por um período de 4 semanas. # $p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham NS.  $n = 7$  animais/grupo. 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com 15mg/kg/dia.

#### 6.4 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRITO

As concentrações plasmáticas de NS, como esperado, aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) nos grupos Sham NS e Hipertenso tratados com 15mg/kg/dia de NS como pode ser observado na Figura 7. Não foi detectado aumento de NS plasmático no grupo hipertenso tratado com 1 mg/kg/dia de NS ( $p > 0,05$ ).

Figura 7 - Níveis de Nitrito ( $\mu\text{mol/L}$ ) plasmáticos.

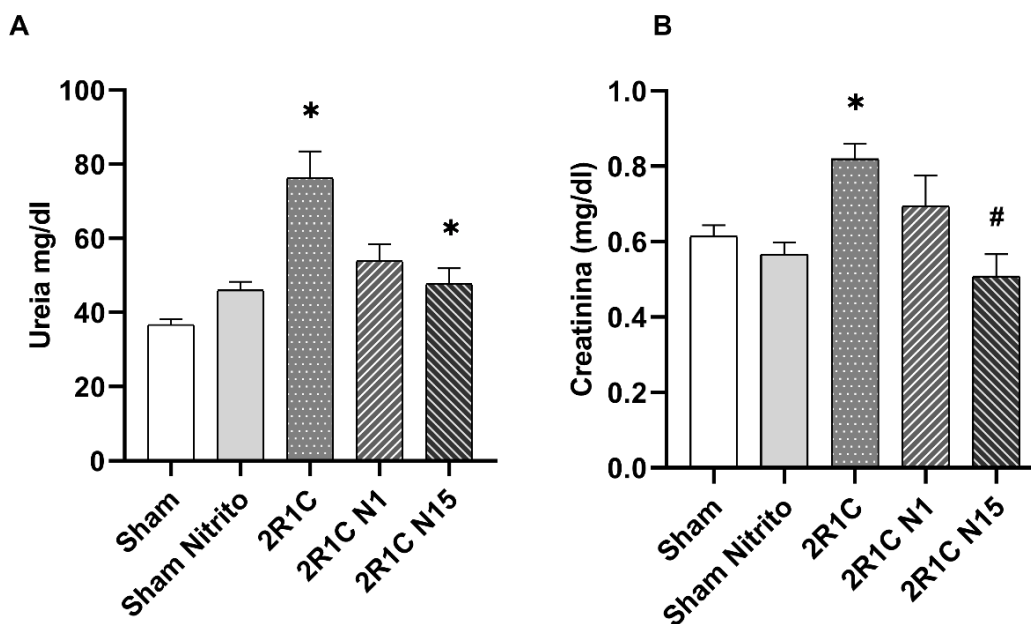
Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

Legenda: Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n=7$  animais/grupo.  $*p<0,05$  versus grupos Sham, 2R1C e 2R1C tratado com NS 1mg/kg/dia. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p>0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com 15mg/kg/dia.

## 6.5 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

Os animais hipertensos apresentaram um aumento significativo nos níveis de ureia e creatinina plasmática ( $p<0,05$ ). O tratamento com NS na dose de 15 mg/kg/dia reverteu ambos os aumentos, conforme demonstrado nas Figuras 8A e B ( $p<0,05$ ), enquanto a dose de 1 mg/kg/dia não teve efeito significativo.

Figura 8 - Ureia e creatinina plasmática (mg/dL).



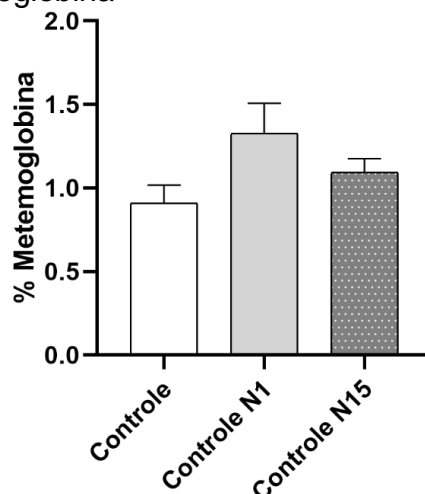
Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

Legenda: **(A)** Níveis de ureia (mg/dL) dosados no plasma de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas. \* $p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham Nitrito; # $p < 0,05$  versus grupo 2R1C **(B)** Creatinina plasmática (mg/dL) em ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com nitrito por 4 semanas. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n=7$  animais/grupo. \* $p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham Nitrito; # $p < 0,05$  versus grupo 2R1C. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p > 0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com 15mg/kg/dia.

## 6.6 DOSAGEM DE METEMOGLOBINA

Conforme observado na Figura 9, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos Sham e Sham tratados com NS ( $p > 0,05$ ).

Figura 9 - % de Metemoglobina



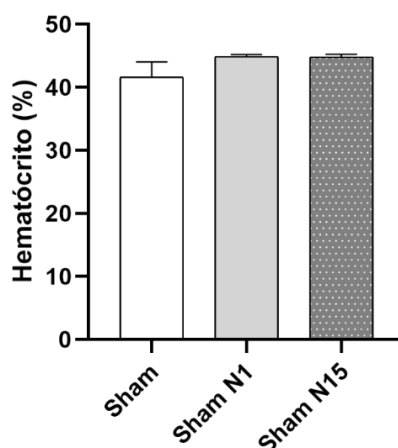
Fonte: Elaborada pela Autora.

Legenda: % de Metemoglobina no sangue de ratos Wistar Sham tratados com água ou nitrito por 4 semanas. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n=7$  animais/grupo. Teste ANOVA one way, ( $p>0,05$ ). Sham N1: Controle tratado com 1mg/kg/dia nitrito. Sham N15: Controle tratado com 15mg/kg/dia nitrito.

## 6.7 HEMATÓCRITO

A análise de grupos não mostrou diferença significativa no hematócrito dos animais Sham e tratados com NS, conforme observado na Figura 10.

Figura 10 - Hematócrito



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

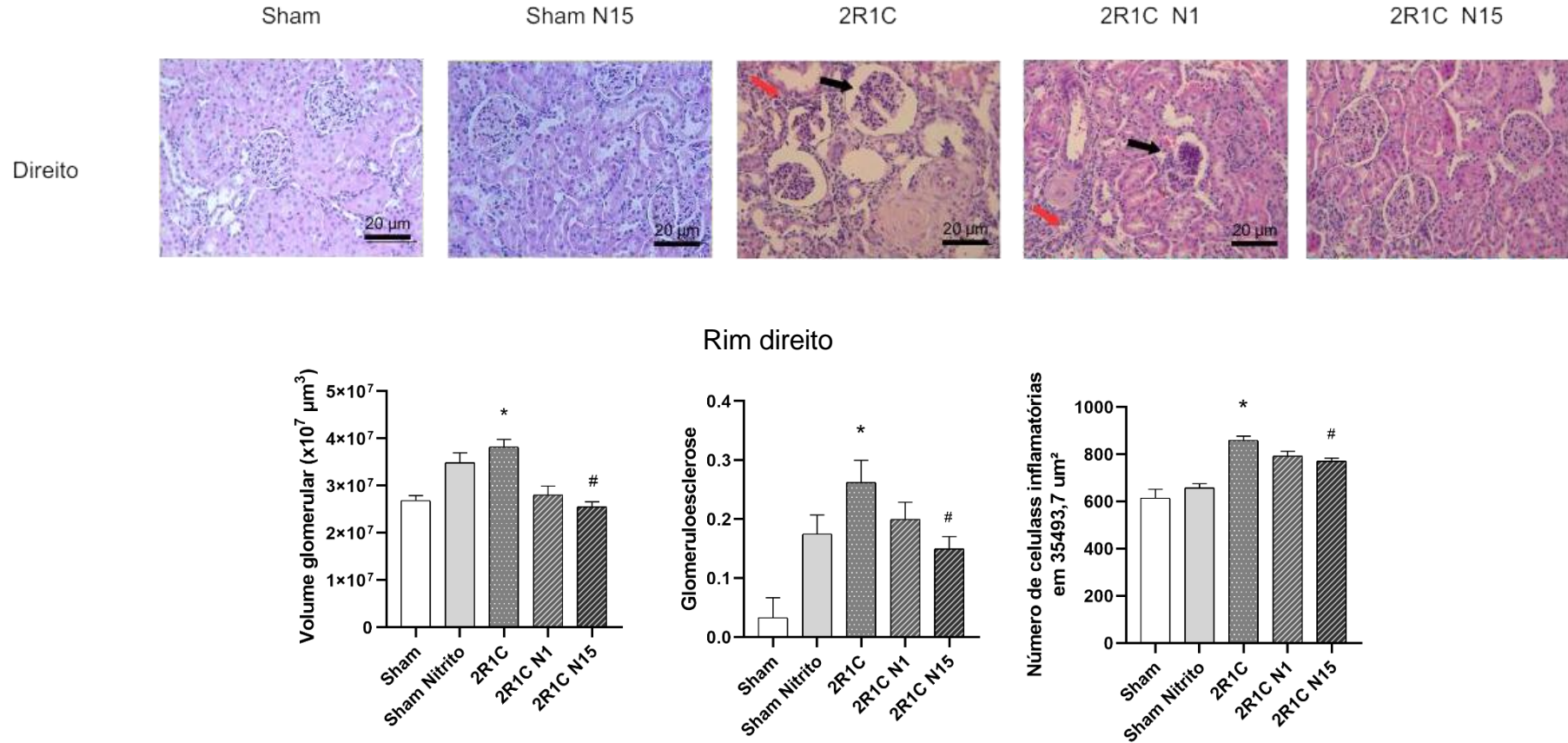
Legenda: Hematócrito de ratos Wistar Sham tratados com Nitrito ou água por 4 semanas. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n=7$  animais/grupo. Teste ANOVA one way, ( $p>0,05$ ). Sham N1: Controle tratado com 1mg/kg/dia nitrito. Sham N15: Controle tratado com 15mg/kg/dia nitrito.

## 6.8 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

A hipertensão provocou alterações estruturais nos rins direito e esquerdo, incluindo aumento do volume glomerular e desenvolvimento de glomeruloesclerose ( $p < 0,05$ ). Essas modificações foram significativamente atenuadas ( $p < 0,05$ ) com o tratamento na dose de 15 mg/kg/dia, como mostrado nas Figuras 12A e 12B. Também foi observado um aumento significativo de infiltrado inflamatório e deposição de colágeno em ambos os rins dos animais hipertensos ( $p < 0,05$ ). O tratamento com NS na maior dosagem, reduziu o infiltrado inflamatório no rim contralateral ( $p < 0,05$ ), conforme também demonstrado na Figura 11A e B. Quanto a deposição de colágeno, embora aumentada significativamente nos dois rins, foi revertida apenas no rim contralateral com a dose mais alta de NS ( $p < 0,05$ ), conforme ilustrado na Figura 11C.

Figura 11 - Histologia do rim de ratos Wistar Sham e 2R1C.

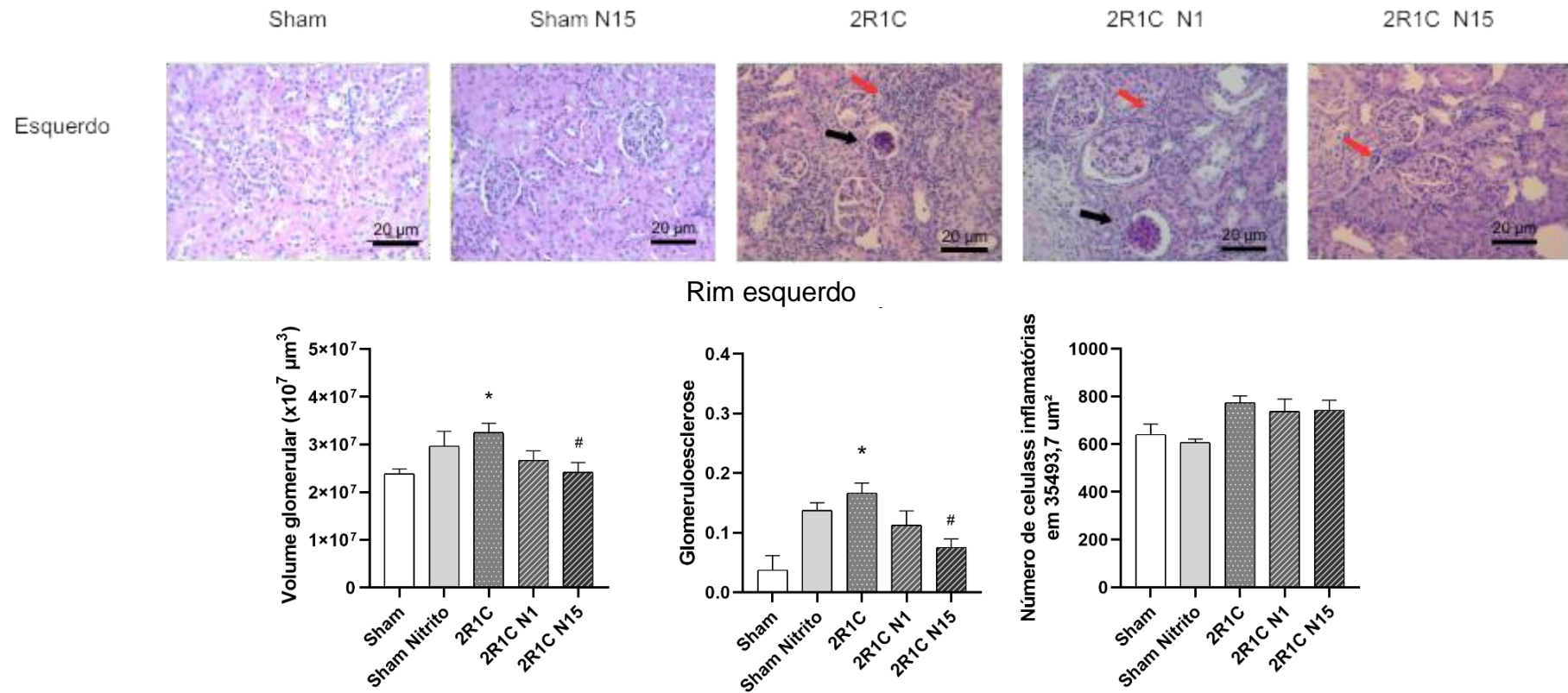
A



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Legenda: Histologia do rim de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com água ou diferentes doses de nitrito por 4 semanas. (A)

Micrografia de luz dos rins não clipados de ratos Wistar dos grupos Sham e 2R1C, tratados com diferentes doses de nitrito por 4 semanas, corados com hematoxilina-eosina. Gráficos representativos da glomerulosclerose (seta preta), volume glomerular e do número de células inflamatórias (seta vermelha) nos rins não clipados.  $p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham Nitrito; # $p < 0,05$  versus grupo 2R1C.

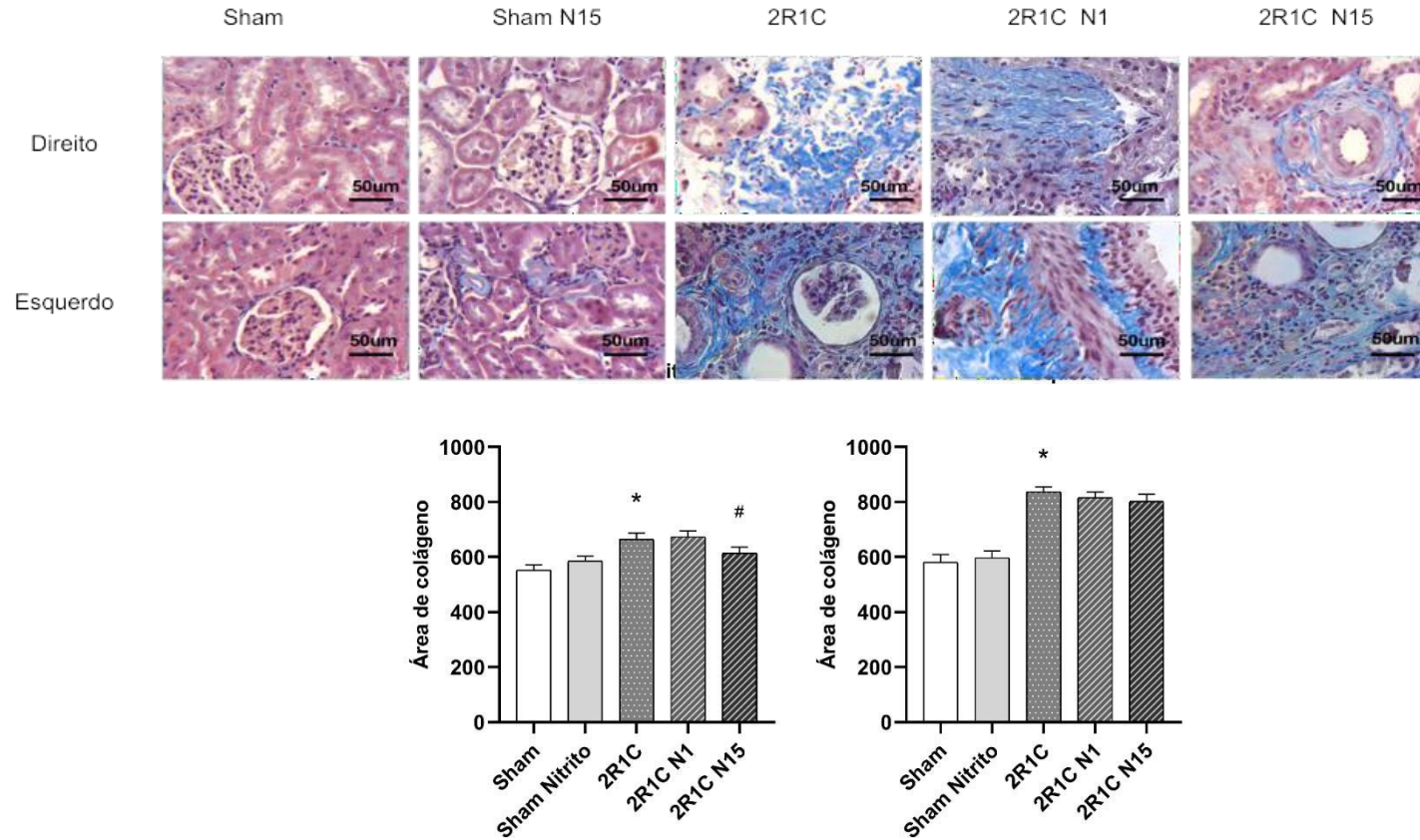
**B**

Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Legenda: Histologia do rim de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com água ou diferentes doses de nitrito por 4 semanas. **(B)**

Micrografia de luz dos rins clipados de ratos Wistar dos grupos Sham e 2R1C, tratados com diferentes doses de nitrito por 4 semanas, corados com hematoxilina-eosina. Gráficos representativos da glomerulosclerose (seta preta), volume glomerular e do número de células inflamatórias (seta vermelha) nos rins clipados.  $p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham Nitrito; # $p < 0,05$  versus grupo 2R1C.

C



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

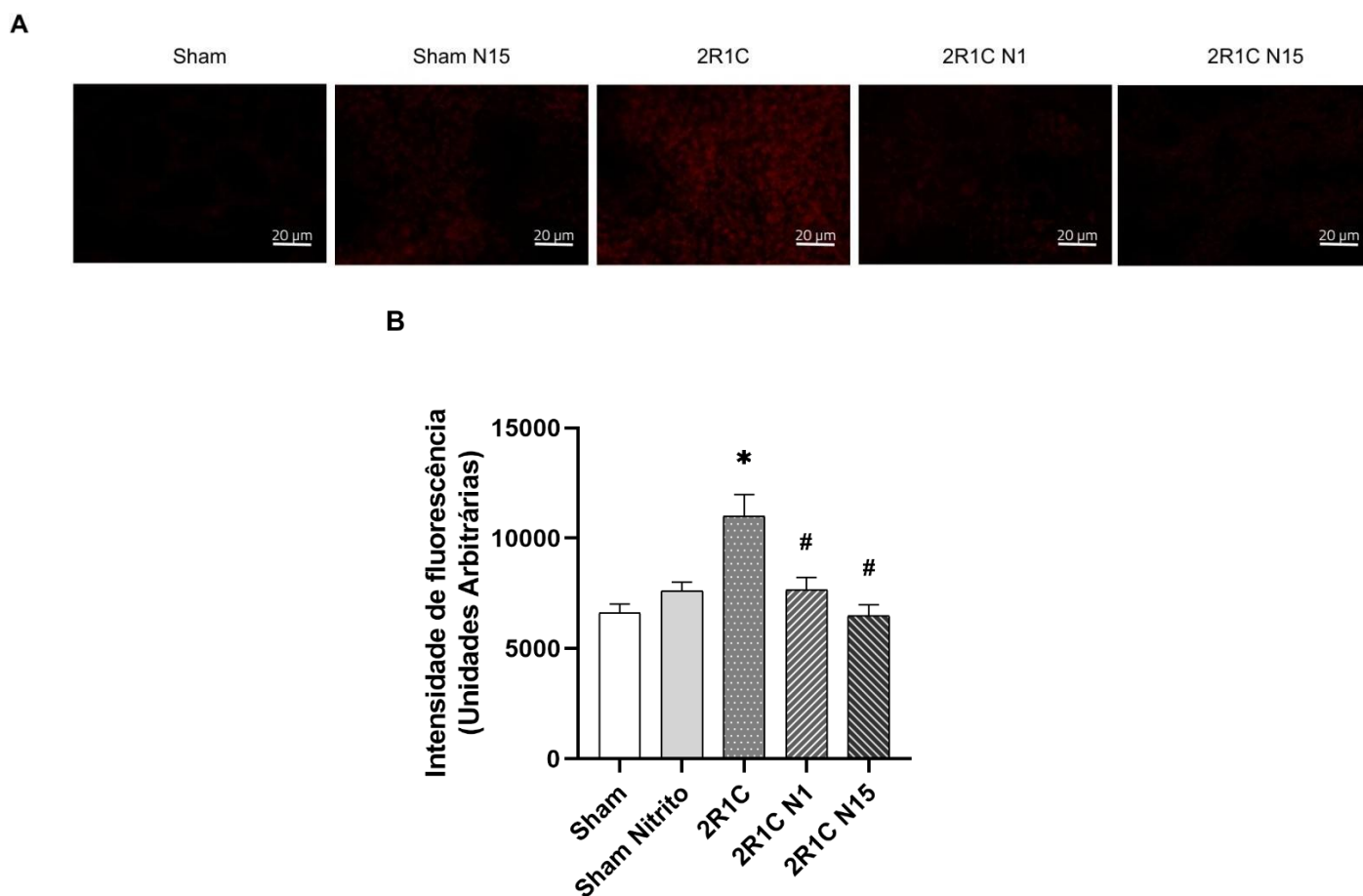
Legenda: Histologia do rim de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com água ou diferentes doses de nitrito por 4 semanas. **(C)** Micrografia de luz e representação gráfica dos rins e não clipados de ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas corados por Tricrômico de Masson. Representação gráfica da glomerulosclerose, volume glomerular e número de células inflamatórias encontrada em ratos Wistar Sham e 2R1C que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas. \* $p < 0,05$  versus grupo Sham e Sham Nitrito. # $p < 0,05$  versus 2R1C.

## 6.9 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

### 6.9.1 Determinação de ERO *in situ*

Foi observado um aumento na intensidade de fluorescência vermelha no grupo Hipertenso, quando comparados aos grupos Sham e Sham NS. Esse aumento foi revertido com ambos os tratamentos com NS (Figura 12 A e B) ( $p < 0,05$ ).

Figura 12 - Fluorescência de ERO *in situ* (DHE).



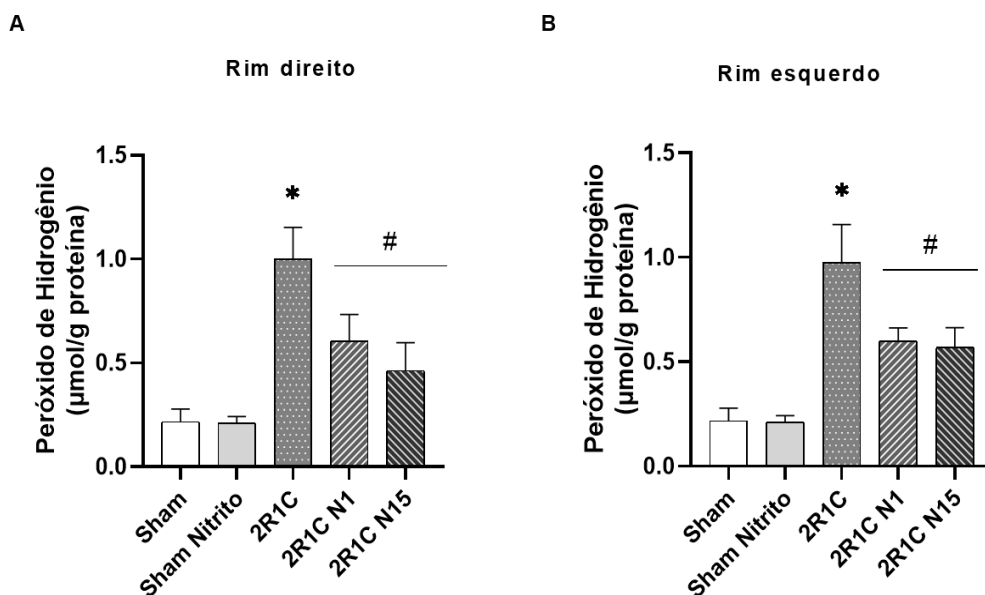
Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Legenda: Fluorescência de ERO *in situ* (DHE) nos rins de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com nitrito por 4 semanas. **(A)** Fotografias representativas do córtex renal (400x) incubados com DHE **(B)** Representação gráfica da intensidade de fluorescência vermelha dos produtos da reação do DHE com ERO. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n = 7$  animais/grupo. post-hoc. \* $p < 0,05$  versus Sham e Sham Nitrito. #  $p < 0,05$  versus 2R1C. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste Sidak's. 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C 15: hipertenso tratado com 15/mg/kg/dia.

## 6.9.2 Avaliação dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no córtex renal

Conforme observado na Figura 13, os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estavam significativamente elevados no grupo hipertenso em ambos os rins. Em relação ao tratamento, ambas as doses resultaram em redução significativa desses níveis, também em ambos os rins.

Figura 13 - Níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (U/mg proteína)



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Legenda: **(A)** Níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (U/mg proteína) nos rins direito de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas n=6 animais/grupo. \*p<0,05 versus Sham e Sham nitrito. #p<0,05 versus grupos 2R1C. **(B)** Níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (U/mg proteína) nos rins esquerdo de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, pelo mesmo período. n=6 animais/grupo. \*p<0,05 versus Sham e Sham nitrito. #p<0,05 versus grupo 2R1C. Dados expressos em média ± SEM. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc (p>0,05). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C 15: hipertenso tratado com 15/mg/kg/dia.

## 6.10 AVALIAÇÃO DO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICO

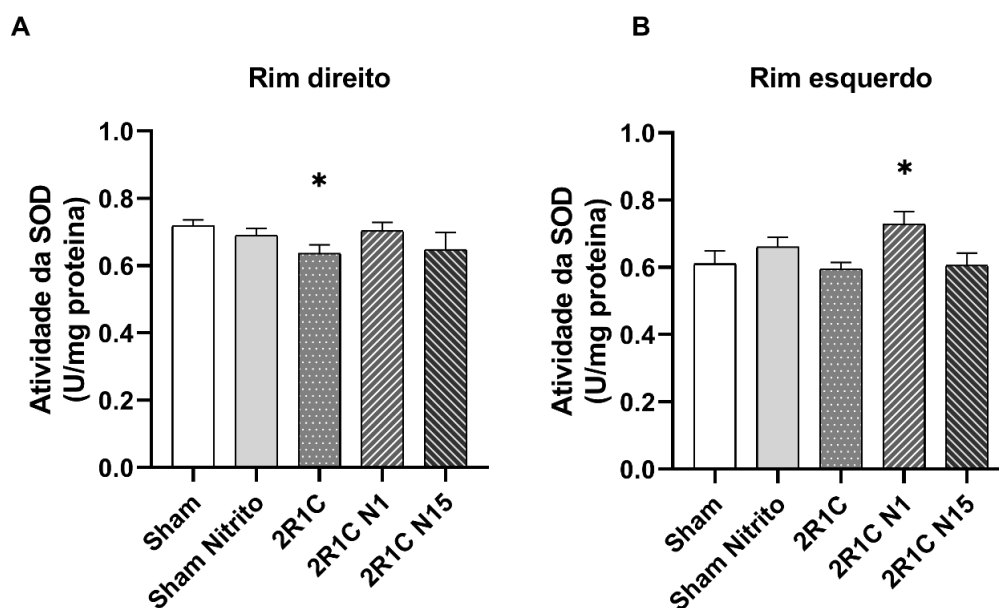
### 6.10.1 Avaliação da atividade da Superóxido Dismutase

Quanto a atividade da SOD, os rins hipertensos de ambos os rins

demonstraram menor atividade quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

Já nos rins esquerdos, o grupo hipertenso tratado com 1mg/kg/dia evidenciaram uma maior atividade quando relacionado ao grupo hipertenso. (Figura 14 A e B).

Figura 14 - Atividade da SOD (U/mg proteína)



Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

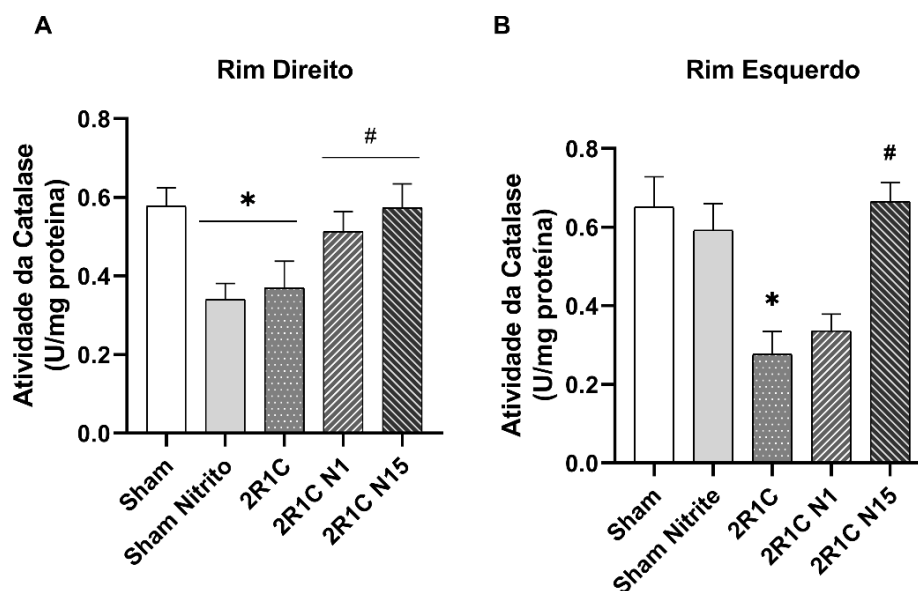
Legenda: Atividade da SOD (U/mg proteína) nos rins de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com nitrito ou água por 4 semanas **(A)** Atividade da SOD (U/mg proteína) nos rins direitos de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com nitrito em diferentes doses por 4 semanas. \* $p < 0,05$  versus grupo Sham. **(B)** Atividade da SOD (U/mg proteína) nos rins direitos de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com nitrito em diferentes doses pelo mesmo período. \* $p < 0,05$  versus grupo Sham e Sham, # $p < 0,05$  versus grupo 2R1C. Dados expressos em média  $\pm$  SEM.  $n = 12$  animais/grupo. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p > 0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com 15mg/kg/dia.

### 6.10.2 Avaliação da atividade da Catalase

Nos rins direito, a atividade da catalase foi reduzida ( $p < 0,05$ ) nos grupos Sham Nitrito e 2R1C, e o tratamento em ambas as dosagens reverteram este aumento (Figura 15A). Nos rins esquerdos, a atividade da catalase diminuiu

significativamente nos animais hipertensos ( $p < 0,05$ ), mas o tratamento com NS (15mg/kg/dia) reverteu essa alteração (Figura 15B).

Figura 15 - Atividade da Catalase (U/mg proteína)



Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

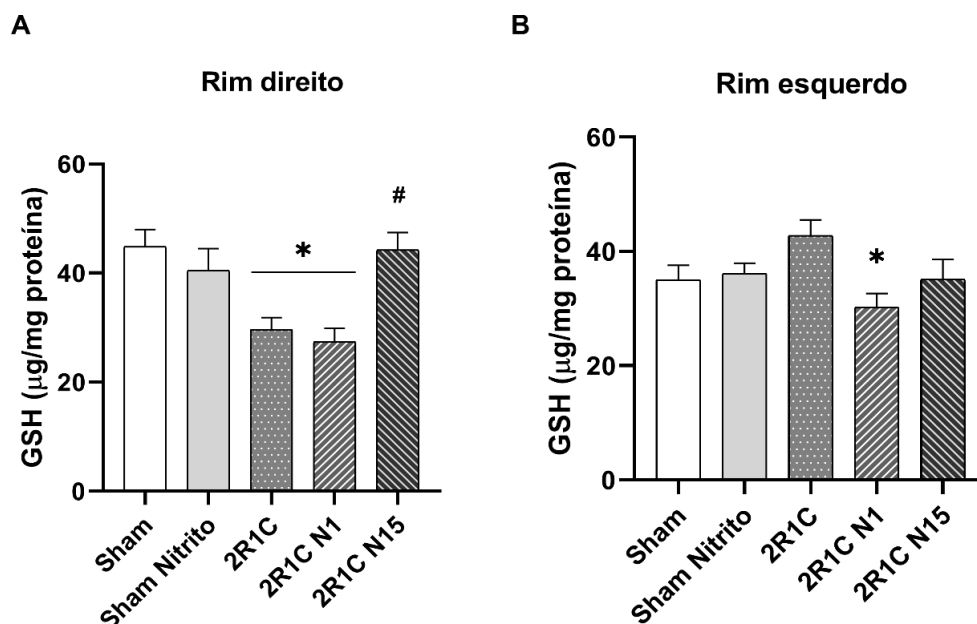
Legenda: Atividade da Catalase (U/mg proteína) nos rins de ratos Wistar Sham e 2R1C, tratados com nitrito por 4 semanas. **(A)** Atividade da Catalase (U/mg proteína) nos rins direito de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $n=12$  animais/grupo.  $*p < 0,05$  versus 2R1C e 2R1C Nitrito 1mg/kg/dia.  $\#p < 0,05$  versus grupos Sham, Sham Nitrito, 2R1C e 2R1C Nitrito 15mg/kg/dia **(B)** Atividade da catalase (U/mg proteína) nos rins esquerdo de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $n=12$  animais/grupo.  $*p < 0,05$  versus Sham.  $\#p < 0,05$  versus grupos Sham, Sham Nitrito, 2R1C e 2R1C Nitrito 1mg/kg/dia. Dados expressos em média  $\pm$  SEM. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p > 0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: tratado com 15/mg/kg/dia.

### 6.10.3 Avaliação níveis renais de Glutathiona reduzida

A análise de dados entre grupos evidenciou uma diminuição significativa dos níveis renais de glutathiona reduzida nos grupos 2R1C e 2R1C tratado com 1mg/kg/dia nos rins direitos dos animais. Já o tratamento com maior dose de NS, aumentou significativamente esses níveis ( $p < 0,05$ ) (Figura 16A). Já nos rins

esquerdos, somente o grupo hipertenso tratado com 1mg/kg/dia teve os níveis diminuídos de GSH renal ( $p < 0,05$ ), e o tratamento com maior dose de NS não foi capaz de reverter esse quadro conforme observado na Figura 16B.

Figura 16 - Níveis de GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  proteína)



Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

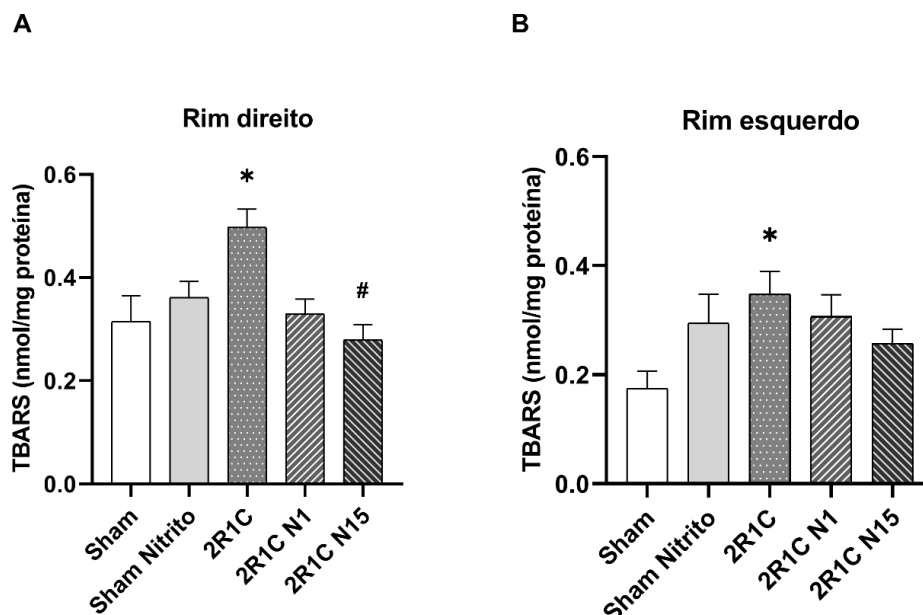
Legenda: Níveis de GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  proteína) nos rins de ratos Wistar Sham e 2R1C, tratados com nitrito por 4 semanas. (A) Níveis de GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  proteína) dosados nos rins direito de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $n=12$  animais/grupo.  $*p < 0,05$  versus grupos Sham e Sham Nitrito.  $\#p < 0,05$  versus 2R1C, 2R1C Nitrito 1mg/kg/dia. (B) Níveis de GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  proteína) nos rins esquerdo de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $n=12$  animais/grupo.  $*p < 0,05$  versus 2R1C. Dados expressos em média  $\pm$  SEM. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p > 0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com 15mg/kg/dia.

## 6.11 AVALIAÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Quanto à peroxidação lipídica, ambos os rins apresentaram aumento significativo de TBARS nos grupos hipertensos ( $p < 0,05$ ), porém esse aumento só foi revertido com NS na dose de 15mg/kg/dia e no rim direito, como

demonstrado nas Figuras 17 A e B.

Figura 17 - Níveis de TBARS (nmol/mg proteína)



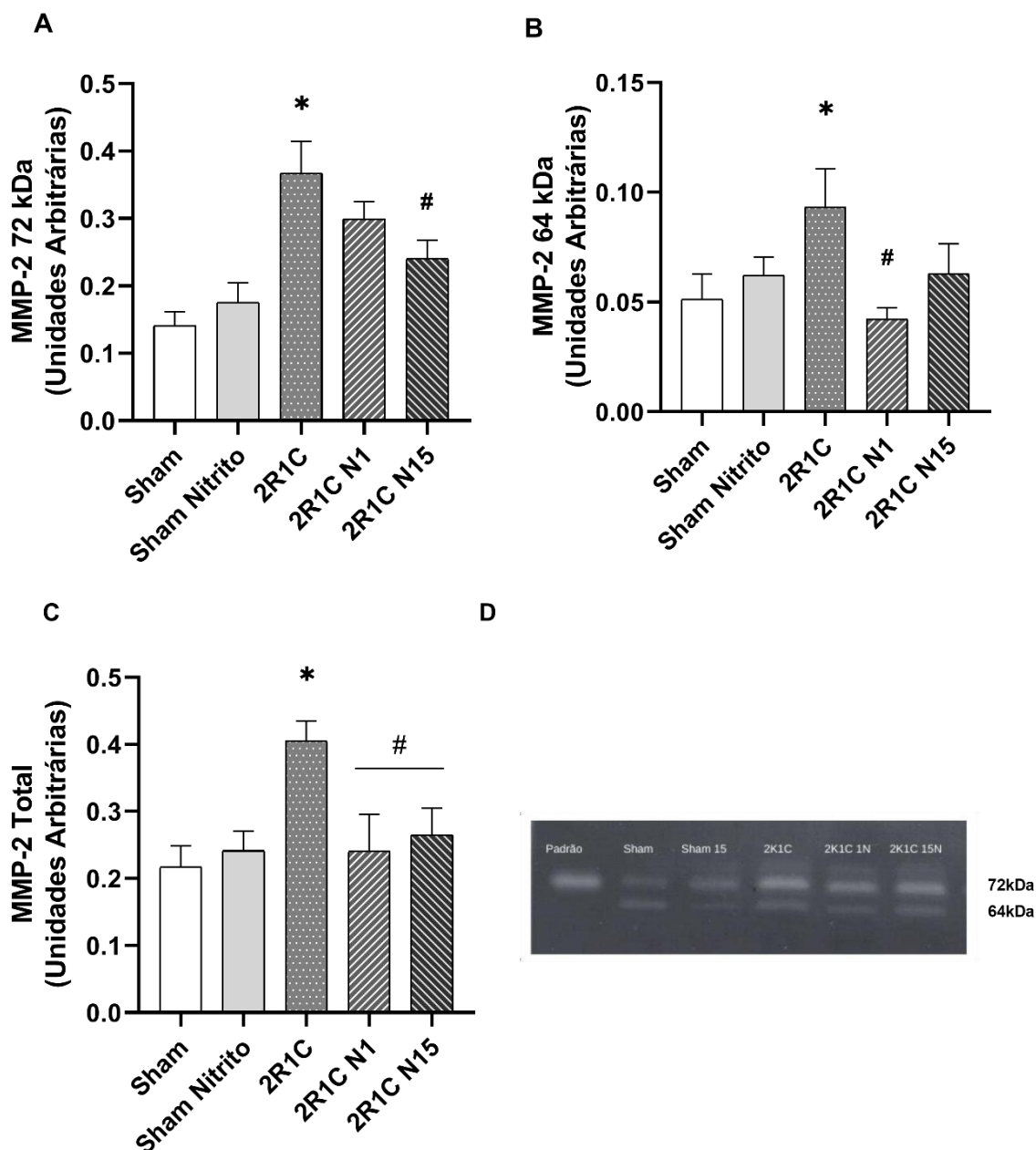
Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

Legenda: Níveis de TBARS (nmol/mg proteína) nos rins de ratos Wistar Sham e 2R1C, tratados com nitrito por 4 semanas. **(A)** Níveis de TBARS (nmol/mg proteína) dosados nos rins direito de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $n=12$  animais/grupo. \* $p<0,05$  versus grupos Sham, 2R1C Nitrito 1 mg/kg/dia. # $p<0,05$  versus 2R1C 15mg/kg/dia. **(B)** Níveis de TBARS (nmol/mg proteína) nos rins esquerdo de ratos Wistar Sham e 2R1C, que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas.  $N=12$  animais/grupo. \* $p<0,05$  versus grupo Sham. Dados expressos em média  $\pm$  SEM. Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p>0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com nitrito 1mg/kg/dia; 2R1C N15: hipertenso tratado com nitrito 15mg/kg/dia.

## 6.12 ZIMOGRÁFIA EM GEL

Um zimograma representativo é mostrado na Figura 18D, que mostra duas bandas diferentes de MMP-2 no rim direito, correspondentes aos pesos moleculares de 72 e 64 kDa. Enquanto a hipertensão elevou os níveis renais de ambas as formas da MMP-2 ( $p<0,05$ ), o tratamento com NS na dose de 1 mg/kg/dia reverteu o aumento da MMP-2 de 64 kDa, enquanto a dose mais alta reduziu os níveis da forma de 72 kDa ( $p<0,05$ ) (Figura 18A-C).

Figura 18 - Atividade gelatinolítica da MMP-2 – Rim direito

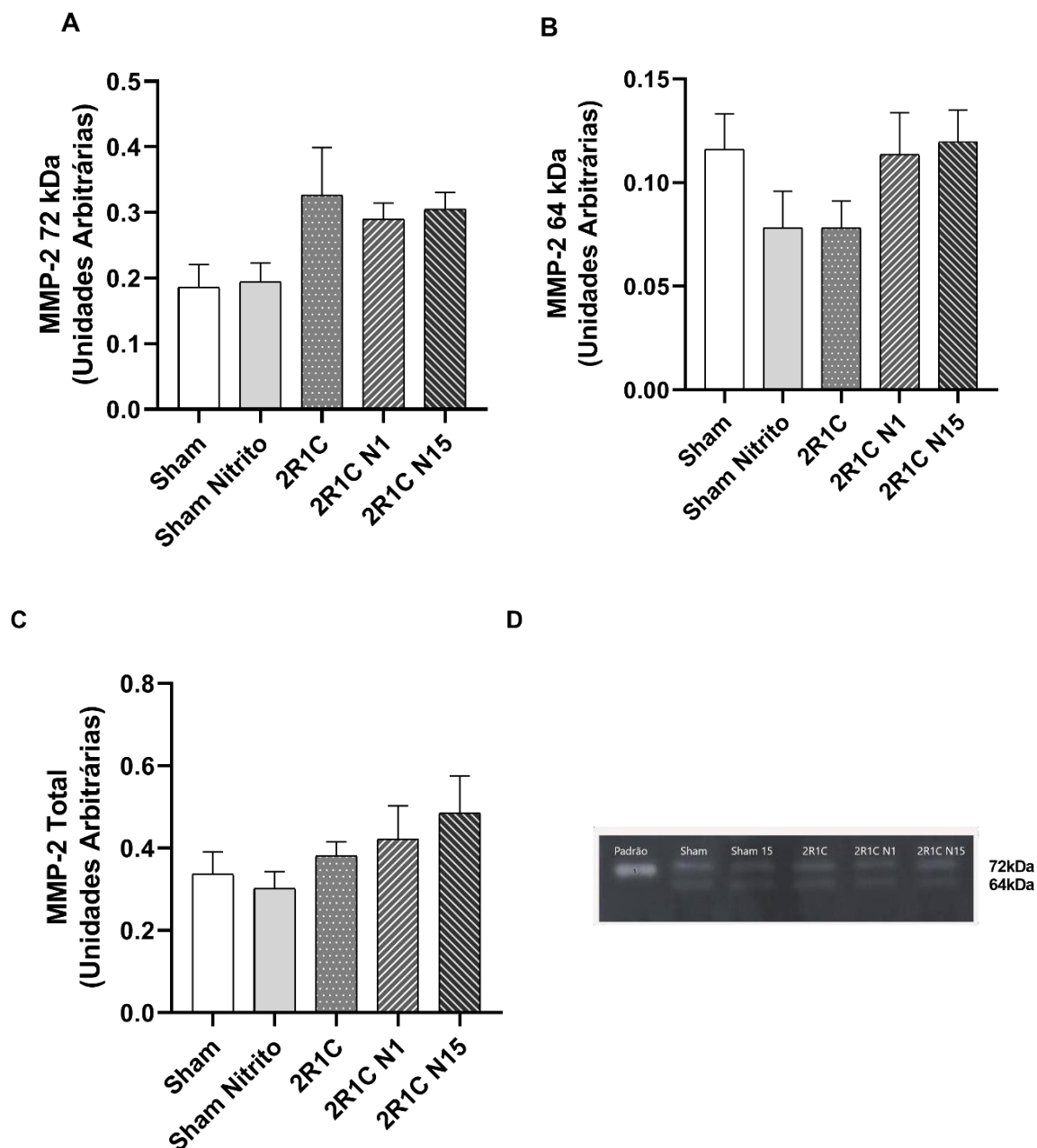


Fonte: Elaborado pela Autora (2025).

Legenda: Atividade gelatinolítica da MMP-2 no rim direito de ratos Wistar Sham e 2R1C tratados com Nitrito, por 4 semanas. **(A)** MMP-2 72kDa \* $p < 0,05$  versus Sham e Sham nitrito. **(B)** MMP-2 64kDa # $p < 0,05$  versus 2R1C. **(C)** MMP-2 72 + 64 kDa \* $p < 0,05$  versus Sham e Sham nitrito. **(D)** Gel representativo de zimografia SDS-PAGE de extrato de renal com peso molecular das bandas de MMP-2 (72 kDa e 64 kDa). Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post- hoc ( $p > 0,05$ ). 2R1C: hipertenso, 2R1C N1: hipertenso tratado com nitrito 1mg/kg/dia; 2R1C N15 hipertenso tratado com nitrito 15mg/kg/dia.

Um zimograma representativo é mostrado na Figura 19D, evidenciando duas bandas distintas de MMP-2 no rim esquerdo, correspondentes aos pesos moleculares de 72 e 64 kDa.

Figura 19 - Atividade gelatinolítica da MMP-2 – Rim esquerdo



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Legenda: Atividade gelatinolítica da MMP-2 por zimografia em tecido renal esquerdo de ratos Wistar Sham que receberam Nitrito em diferentes doses, por um período de 4 semanas. Dados expressos em média  $\pm$  SEM. n=12 animais/grupo. **(A)** MMP-2 72kDa **(B)** MMP-2 64kDa. **(C)** MMP-2 Total (72 + 64 kDa). **(D)** Gel representativo de zimografia SDS-PAGE de

extrato de renal com peso molecular das bandas de MMP-2 (72 kDa e 64 kDa). Teste ANOVA two way, seguido pelo teste de Sidak's post-hoc ( $p > 0,05$ ).

## 7 DISCUSSÃO

Demonstramos que a hipertensão 2R1C provocou alterações estruturais renais, evidenciadas pelo aumento do volume glomerular e pela glomeruloesclerose. Esses danos foram acompanhados por maior produção de ERO, redução da atividade do sistema antioxidante enzimático, elevação dos níveis de MMP-2 e aumento do infiltrado inflamatório no rim contralateral. No rim clipado, também observamos aumento de  $H_2O_2$ , diminuição ou tendência à redução das enzimas antioxidantes, elevação da peroxidação lipídica, maior infiltrado inflamatório e intensa deposição de colágeno. O conjunto dessas alterações resultou em níveis elevados de ureia e creatinina plasmáticas, indicando dano renal funcional. O tratamento dos animais hipertensos com NS na dose de 15 mg/kg/dia mostrou-se promissor. Essa intervenção não apenas reduziu o estresse oxidativo, como também promoveu melhora histológica do tecido renal em ambos os rins. Observamos reversão nos níveis de creatinina e ureia, além de redução da expressão de MMP-2, do infiltrado inflamatório e da deposição de colágeno no rim contralateral. Por outro lado, a dose de 1 mg/kg/dia, embora tenha atenuado o estresse oxidativo, não foi eficaz na redução da pressão arterial nem na reversão dos danos histológicos observados. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a avaliar os efeitos renais do tratamento com NS na hipertensão 2R1C.

No experimento, a hipertensão arterial induzida pela técnica de 2R1C, resultou não apenas na elevação, mas também na manutenção de níveis elevados de pressão arterial durante todo o período experimental. Em relação ao tratamento, observamos que apenas a maior dosagem (15 mg/kg/dia) atenuou o quadro hipertensivo. No entanto, os animais continuam com a pressão arterial superior à dos animais controles. Resultados semelhantes foram relatados por Rizzi et al. (2019), que investigaram se diferentes dosagens de NS (1 e 15 mg/kg/dia) poderiam atenuar a ativação da MMP-2 e a remodelação vascular associada à hipertensão.

Para avaliar se a hipertensão ou o tratamento com NS influenciariam o ganho de peso (g) dos animais, esse parâmetro foi avaliado semanalmente. A ausência de alteração no ganho de peso corporal observada neste estudo foi semelhante à encontrada por Neto-Neves *et al.*, (2019) que induziram a

hipertensão 2R1C em ratos, por 4 semanas a fim de tratá-los com NS e avaliar possíveis melhorias na função cardíaca.

Após o final do protocolo experimental, conforme o esperado, os animais hipertensos divergiram quanto ao peso do rim direito e esquerdo. A histologia realizada nos rins contralaterais dos animais hipertensos, demonstrou aumento do volume glomerular, resultado que corresponde aos de Chaihongsa *et al.*, (2022) que encontraram hipertrofia glomerular. O aumento do volume glomerular, como uma resposta adaptativa à sobrecarga funcional, contribui diretamente para a glomeruloesclerose. Os glomérulos escleróticos foram encontrados em ambos os rins, mas em quantidade superior no rim contralateral, o rim clipado mostrou glomeruloesclerose menos pronunciada, o que corrobora os resultados encontrados por Kobayashi *et al.*, (1999), que pesquisavam o bloqueio de Ang II em ratos hipertensos pelo modelo 2R1C.

O tratamento com NS na menor dose, não foi capaz de reverter a glomeruloesclerose observada, isso pode justificar a ausência de melhora nos níveis de ureia e creatinina plasmática com 1 mg/kg/dia de NSNS. Estudos anteriores demonstraram que o rim clipado tornou-se menor devido à hipoperfusão (Chaihongsa *et al.*, 2022; J. Cheng *et al.*, 2009; Kobayashi *et al.*, 1999). A literatura sugere que essa atrofia é resultado de lesão glomerular, aumento de deposição de colágeno entre outros eventos, que são características de lesões causadas pela estenose da artéria renal esquerda (Kobayashi *et al.*, 1999). Com a quantificação das lâminas de colágeno, isso foi comprovado. Em ambos os rins hipertensos, foi encontrada deposição significativa de colágeno, porém em maior quantidade no rim clipado. De modo semelhante, Alam *et al.*, (2015) também encontraram aumento da deposição de colágeno em ambos os rins de animais hipertensos pelo modelo 2R1C por 6 semanas.

Outra característica histopatológica marcante observada no tecido renal foi o aumento da infiltração de células inflamatórias em ambos os rins dos animais hipertensos, achado que corrobora os resultados de Thongsepee *et al.*, (2024), que investigaram os efeitos anti-hipertensivos do extrato de *Garcinia dulcis*, uma planta tropical, em ratos Wistar submetidos ao modelo de HR 2R1C por quatro semanas. Esse resultado era esperado, uma vez que o estresse oxidativo pode induzir a ativação de vias inflamatórias e favorecer a infiltração

de células imunes no parênquima renal, contribuindo para a progressão da inflamação crônica nesse modelo (Selim *et al.*, 2021; Shuvo *et al.*, 2025). Essa cascata de eventos favorece a morte celular e o início do processo de fibrose, alterações também observadas no presente estudo. Quanto ao tratamento, apenas a maior dosagem foi eficaz em diminuir.

Na hipertensão induzida pelo modelo 2R1C, as cargas de volume e pressão no rim levam a danos e disfunção renal (Gunst *et al.*, 2019; Sawant & Bodhankar, 2016). Esse efeito foi confirmado neste estudo, onde observamos aumento dos níveis plasmáticos de ureia e creatinina em animais hipertensos, indicando disfunção renal. Esse achado é consistente com Le *et al.*, (2022), que relataram elevação de ureia em ratos submetidos ao modelo 2R1C por 6 semanas, assim como com os estudos de Da Costa *et al.*, (2017) e Huang *et al.*, (2014), que também observaram aumento da creatinina em modelos de hipertensão por 6 e 4 semanas, respectivamente. No grupo hipertenso tratado com 15 mg/kg/dia, os níveis de ureia e creatinina plasmática foram normalizados, sugerindo que a dose foi eficaz em reverter os danos provocados pela hipertensão na função renal, embora os animais continuem hipertensos quando comparado aos controles. Por outro lado, a dose de 1 mg/kg/dia não foi capaz de reverter esse parâmetro, indicando ser ineficaz na melhora da função renal.

Como o NS foi utilizado como tratamento em nossa pesquisa, o próximo passo foi medir sua concentração plasmática. Observamos que os níveis plasmáticos de NS aumentaram nos grupos Sham e 2R1C tratados com 15 mg/kg/dia, como esperado. Guimaraes *et al.*, (2018) também observaram um aumento significativo dos níveis plasmáticos de NS em ratos Wistar submetidos à hipertensão 2R1C e tratados com NS na mesma dose e duração deste estudo. Como o NS pode gerar NO, que promove vasodilatação, o aumento plasmático observado pode estar relacionado à redução da pressão arterial, favorecendo a dilatação dos vasos sanguíneos.

O modelo 2R1C de hipertensão resulta em uma hipertensão induzida por Ang II com aumento do estresse oxidativo (Pereira *et al.*, 2022), com base nisso, avaliamos o estresse oxidativo e investigamos os efeitos do NS na modulação desse processo. Focando aqui somente nos animais hipertensos, iniciamos

avaliando a produção de ERO e as enzimas que compõe o sistema de defesa antioxidante enzimático, SOD, CAT e níveis de GSH, responsáveis pela dismutação do  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e, posteriormente, pela conversão deste em oxigênio e água, respectivamente. Observamos uma redução na atividade enzimática da SOD, CAT e níveis de GSH nos rins contralaterais, e CAT e SOD nos rins clipados. Essa diminuição, aliada ao aumento conhecido da atividade da NADPH oxidase, ativada pela Ang II, cujos níveis estão elevados neste modelo de hipertensão (Alawi *et al.*, 2021a; Nishi *et al.*, 2010; Polizio *et al.*, 2009), explica o aumento das ERO e  $H_2O_2$  observado nos animais hipertensos. Outro fator que pode contribuir para os níveis elevados de ERO, mesmo com a atividade reduzida da CAT, é o aumento da atividade da enzima XOR, que também é ativada pela Ang II. Quando regulada positivamente, ela aumenta a produção dessas ERO, e o tratamento de ratos 2R1C com inibidor da XOR, promoveu melhora no sistema de defesa antioxidante enzimático, indicando que essa enzima pode contribuir para o desequilíbrio redox encontrado na hipertensão 2R1C (Higashi *et al.*, 2014; Shuvo *et al.*, 2025). Corroborando nossos resultados, diferentes estudos encontraram, neste modelo de hipertensão, uma redução no sistema de defesa antioxidante enzimático, acompanhada por um aumento na produção de ERO (Alawi *et al.*, 2021b; Nishi *et al.*, 2010).

Embora os mecanismos exatos desse efeito ainda não sejam completamente compreendidos, estudos sugerem que o NS reduz a atividade da NADPH oxidase, reduzindo assim a formação ERO (Ling *et al.*, 2018; Montenegro *et al.*, 2011b; Schiffer *et al.*, 2020). Nossos resultados corroboram esses achados, demonstrando que tanto a dose alta quanto baixa de NS reduziram a formação de ERO renal, conforme avaliado pelas técnicas de DHE e Amplex Red. Resultado semelhante foi encontrado por (Rizzi *et al.*, 2019a) que encontraram diminuição dos níveis de ERO na aorta de ratos hipertensos pelo modelo 2R1C, tratado com 1 e 15mg/kg/dia de NS.

Quanto ao sistema de defesa antioxidante enzimático, no rim contralateral encontramos aumento da atividade da CAT e níveis de GSH, que provavelmente contribuíram para a diminuição de  $H_2O_2$  antes aumentada pela hipertensão. Já nos rins estenóticos, foi observado somente aumento da atividade da SOD na

menor dosagem e CAT na maior dosagem. A alta atividade da CAT neste rim pode ter sido suficiente para reduzir os níveis de  $H_2O_2$ , eliminando a necessidade de maior atividade da GPX (consequentemente dos níveis de GSH) que é menos abundante no rim. A melhora na defesa antioxidante enzimática em ambos os rins, comparados aos rins hipertensos, pode ajudar a explicar a diminuição dos níveis de ERO encontrada nestes animais.

O  $O_2^-$  altamente reativo, reage com NO para formar  $OONO^-$ , que, por sua vez, promove a peroxidação lipídica. No grupo hipertenso, o excesso de  $O_2^-$  favorece essa reação, aumentando o estresse oxidativo. Ao analisar essa interação nos grupos experimentais, observamos níveis elevados de MDA, marcador de peroxidação lipídica, em ambos os rins dos animais hipertensos. Thongsepee *et al.*, (2024) também encontraram aumento de MDA em ambos os rins de ratos com 4 semanas de HR pelo modelo 2R1C. O tratamento com NSNS (15 mg/kg/dia) reduziu os níveis de MDA especificamente nos rins direitos, sugerindo uma diminuição nos danos oxidativos às membranas celulares neste rim. Esse efeito era esperado, pois a redução dos níveis de ERO, consequentemente de  $O_2^-$  observado neste grupo, diminui sua interação com o NO, aumentando a biodisponibilidade deste último. Essa maior disponibilidade de NO favorece o vasorelaxamento e contribui para a proteção tecidual contra o estresse oxidativo. Esse processo contribuiu para a redução da pressão arterial observada. Ainda, um estudo realizado por Guimarães *et al.*, (2018) avaliou o efeito do NS (1 e 15 mg/kg/dia) em ratos hipertensos 2R1C na reversão da hipertrofia cardíaca e observou uma redução nos níveis de MDA no coração apenas com a maior dosagem (15 mg/kg/dia). De forma semelhante ao nosso estudo, a dose de 1 mg/kg/dia não foi eficaz na diminuição dos níveis de MDA no tecido cardíaco.

O aumento do estresse oxidativo desempenha um papel importante na ativação da MMP-2 (Liu & Staruschenko, 2023). Além disso, níveis elevados de MMP-2 nos rins estão associados a danos na estrutura e comprometimento da função renal (Z. Cheng *et al.*, 2017). Com a hipótese de inibir esses efeitos com o uso do NS, avaliamos os níveis de MMP renal utilizando a zimografia em gel. Observamos aumento das isoformas da MMP-2 no rim direito dos animais hipertensos. O aumento da formação de ERO, que pode ser observado nos

animais hipertensos neste modelo, ativa a MMP por meio da oxidação de um resíduo de cisteína na porção pró-peptídeo da enzima que desencadeia a atividade gelatinolítica da MMP-2 (Viappiani *et al.*, 2009), o que pode explicar esse aumento de MMP-2. De forma semelhante ao observado em nosso estudo, Liu *et al.* (2023) identificaram um aumento nos níveis de MMP-2 em ratos com hipertensão sensível ao sal, enquanto investigavam o papel dessa MMP no desenvolvimento de lesões renais nesse modelo. No rim contralateral, o tratamento com NS foi capaz de reverter o aumento observado no grupo hipertenso. A maior dosagem, reverteu a MMP-2 72kDa e a menor a de 64 kDa. Isso também pode ser explicado, pela diminuição do estresse oxidativo observado em ambos os tratamentos com NS.

Estudos indicam que as MMPs regulam o desenvolvimento e a remodelação tecidual, com expressão e função no rim variando conforme a patologia e o estágio da doença (Z. Cheng *et al.*, 2017; Parrish, 2017; Wozniak *et al.*, 2021). No início da fibrose renal, a MMP-2 promove a deposição de matriz extracelular (MEC) e acelera a progressão do processo fibrótico, enquanto em estágios avançados sua atividade diminui, dificultando a degradação da MEC e a reversão da fibrose (Wozniak *et al.*, 2021). Esse declínio pode estar associado a hipóxia e à endocitose, que também modulam a expressão de reguladores da MMP-2 (Z. Cheng *et al.*, 2018; Ronco *et al.*, 2007). No rim clipado, a presença de hipóxia é bem estabelecida, o que pode ter influenciado os resultados observados em nosso estudo. Como a fibrose se desenvolve progressivamente, é possível que tenhamos analisado uma fase na qual a atividade da MMP-2 já se encontra reduzida, mas sem uma diferença significativa nos níveis detectáveis. Após a quantificação das lâminas coradas com Tricrômico de Masson, observou-se aumento da deposição de colágeno no rim clipado, mesmo na ausência de alteração significativa nos níveis detectáveis de MMP-2. Esses achados sugerem que, no estágio avaliado, a atividade da MMP-2 se encontra reduzida, contribuindo para a progressão da fibrose. Além disso, o tratamento

com NS não foi capaz de reverter esse padrão, o que pode estar relacionado ao estágio da fibrose no momento da intervenção, sugerindo uma limitação de sua eficácia em fases mais tardias do processo fibrótico.

Este estudo avaliou a toxicidade do NS nas dosagens de 1 mg/kg/dia e 15 mg/kg/dia, considerando sua importância como agente terapêutico e seu potencial tóxico em doses inadequadas. Embora os níveis de metemoglobina tenham tido tendência ao aumento nos grupos tratados, eles permaneceram abaixo de  $0,49 \pm 0,18\%$ , valor de referência estabelecido por De Moraes e colaboradores., (2008) indicando que, apesar do aumento, os níveis não ultrapassaram o limite considerado na literatura. A literatura cita uma dose letal média (DL50) aguda oral de nitrito de 100 mg/kg (El-Nabarawy *et al.*, 2020; Imaizumi *et al.*, 1980). Em contraste, nosso protocolo experimental envolveu a administração diária de 15 mg/kg durante um período de 4 semanas. A dose aguda máxima utilizada em nosso estudo é significativamente menor (aproximadamente 6,67 vezes) que a DL50 aguda, indicando uma margem de segurança considerável para a toxicidade imediata. Essa abordagem de administração repetida em baixa dose visa explorar os benefícios terapêuticos potenciais, como a redução da pressão arterial, ao longo do tempo, minimizando os riscos associados à toxicidade aguda. Estudos prévios com administração oral, inalatória ou intramuscular de doses menores que 20 mg/kg mostraram que níveis de metemoglobina abaixo de 40% foram bem tolerados em ratos, sem efeitos prejudiciais relevantes (De Moraes *et al.*, 2008; El-Nabarawy *et al.*, 2020; Miller *et al.*, 2021; Tepper *et al.*, 2014)

## 8 CONCLUSÃO

Nosso trabalho sugere que a hipótese inicial foi parcialmente refutada. Observamos que, embora a hipertensão tenha provocado alterações morfológicas e funcionais nos rins de ratos Wistar, a menor dose de 1 mg/kg/dia não foi capaz de reduzir significativamente a pressão arterial, como inicialmente proposto. No entanto, essa dose apresentou efeitos benéficos importantes, como a melhora da defesa antioxidante enzimática e a atenuação do estresse oxidativo. Por outro lado, a dose de 15 mg/kg demonstrou melhores resultados, reduzindo a pressão arterial e atenuando as alterações histológicas renais, com diminuição do infiltrado inflamatório e da deposição de colágeno no rim contralateral ao clipe, além da redução dos níveis de MMP-2 e da melhora da função renal.

**9 Segunda etapa - Effectiveness and safety of the use of sodium nitrite in patients with hypertension and pulmonary hypertension: a scoping review**

Artigo publicado na revista: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology



# Effectiveness and safety of the use of sodium nitrite in patients with hypertension and pulmonary hypertension: a scoping review

Jéssyca Milene Ribeiro<sup>1</sup> · Aleksander Brandão Santana<sup>1</sup> · Letícia de Oliveira Marusso<sup>1</sup> · Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon<sup>1</sup> · Tiago Marques dos Reis<sup>1</sup> · Pedro Luiz Rosalen<sup>1</sup> · Larissa Helena Lobo Torres<sup>1</sup> · José Eduardo Tanus-Santos<sup>2</sup> · Carla Speroni Ceron<sup>3</sup>

Received: 14 November 2024 / Accepted: 6 January 2025

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2025

## Abstract

Evidence suggests that sodium nitrite may be effective in the treatment of hypertension and pulmonary hypertension. However, its use remains debated due to safety concerns. In response, a scoping review was conducted to map current knowledge on the efficacy and safety of sodium nitrite in patients with hypertension or pulmonary hypertension, addressing the question: What evidence supports the effectiveness and safety of using sodium nitrite in these patients? The databases MEDLINE (PubMed), EMBASE, Scopus, Web of Science, and LILACS were searched for clinical studies on hypertensive patients at any disease stage without restrictions on age, sex, ethnicity, publication date, or status. The primary outcomes analyzed were the efficacy and safety of sodium nitrite. A total of nine articles were included, eight from databases and one from gray literature. Sample sizes ranged from 5 to 36 patients, with sodium nitrite doses between 240 µg/kg/h and 325 mg. Five studies showed positive results for treating essential hypertension. Regarding safety, only one study raised concerns about adverse effects, probably due to the high dose that was used. In pulmonary hypertension patients classified as groups 2, 3, and 5, four studies suggested sodium nitrite was effective and safe, but it was ineffective in group 1. The studies included several significant limitations that should be considered. As such, the current evidence is insufficient to definitively confirm the efficacy and safety of sodium nitrite in hypertensive patients. Further research with larger sample sizes is necessary to obtain more conclusive results.

**Keywords** Vasodilators · Clinical outcomes · Qualitative synthesis · Treatment effectiveness · Adverse effects

## Introduction

Sodium nitrite is an inorganic compound highly soluble in water with a variety of therapeutic applications. It has gained attention in the medical field for its potential therapeutic roles through its reduction into nitric oxide (NO) in the body. NO is a potent vasodilator that directly binds to soluble

guanylyl cyclase, producing cGMP (Ataei Ataabadi et al. 2020; Tejero et al. 2019). Besides its vasodilatory properties, which contribute to the maintenance of vascular homeostasis, it also has anti-inflammatory and antithrombotic properties (Kuczeriszka and Wąsowicz 2022; Lundberg et al. 2008, 2015). These properties are beneficial in conditions where NO production is impaired, such as hypertension and pulmonary hypertension (Alqarni et al. 2023; Benza et al. 2024; D'Agostino et al. 2024; Genovesi et al. 2022; Kiowski et al. 2021; Konukoglu and Uzun 2016).

According to the World Health Organization (WHO), systolic blood pressure (SBP)  $\geq 140$  mmHg, diastolic blood pressure (DPB)  $\geq 90$  mmHg, or taking medication for hypertension defines hypertension. This multifactorial condition is one of the leading causes of death and disability risk factors (WHO 2023). Hypertension is an important public health problem that leads to health problems such as heart attack, heart failure, stroke, and kidney damage. It is estimated that

✉ Carla Speroni Ceron  
carla.ceron@ufop.edu.br

<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Alfenas, Alfenas, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

<sup>3</sup> Department of Biological Sciences, Institute of Exact and Biological Sciences, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, Brazil

10.8 million people die from hypertension annually, rising from the sixteenth leading cause of death in 2000 to the tenth in 2021 (Abbafati et al. 2020).

Pulmonary hypertension is considered a heterogeneous disease in which patients present mean pulmonary artery pressure (mPAP) > 20 mmHg measured by right heart catheterization, and it can lead to right ventricular failure and death (Humbert et al. 2023; Maron 2023). Pulmonary hypertension is classified into five clinical categories based on the causes of the abnormal pulmonary artery pressure: pulmonary arterial hypertension (PAH), lung diseases and/or hypoxia, left heart disease, pulmonary artery obstructions (thromboembolic syndromes), and multifactorial or undifferentiated (Maron 2023). Among these subtypes, pulmonary hypertension due to left heart and lung diseases is the most common (Humbert et al. 2023).

Although evidence suggests that sodium nitrite may be an alternative for managing arterial hypertension and pulmonary hypertension in patients who do not respond adequately to conventional therapies (Cosby et al. 2003; Dejam et al. 2007; Stokes et al. 2009; Webb et al. 2008), there is no consensus on the application, efficacy, and safety of sodium nitrite as a treatment for these conditions. Considering that nitrite can oxidize the iron of the hemoglobin, reducing its capacity for oxygen transport—a condition called methemoglobinemia, which may occur in elevated dosages or chronic exposure (Elsherbini et al. 2021; Ludlow et al. 2023)—and that nitric oxide released by nitrite may react with reactive oxygen species in pathological conditions to form highly reactive and damaging species such as peroxynitrite (Piacenza et al. 2022; Radi 2018), nitrite therapy may induce undesirable side effects. Thus, this scoping review aims to comprehensively map the existing scientific knowledge about the effectiveness of sodium nitrite in lowering blood pressure in patients with hypertensive or pulmonary hypertension and assess its safety in these populations.

## Methods

This review was conducted in accordance with the Joanna Briggs Institute's (JBI) methodology for scoping review, and the PRISMA-ScR (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses for Scoping Reviews) extension was used to report the results of the scoping analysis (Peters et al. 2022). The study was registered in the Open Science Framework under registration <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/F97DR> (Ribeiro et al. 2024). Considering that the PCC approach was used to formulate the research question, which refers to the Population (adult human patients over 18 years of age, both sexes, with any type of hypertension), Concept (use of sodium nitrite in any dosage, route of administration, or formulation for the management of hypertension

and pulmonary hypertension), and Context (any healthcare setting anywhere in the world: hospitals, long-term intervention centers, research centers, primary, secondary, or tertiary care), the following question was formulated: What evidence supports the effectiveness and safety of using sodium nitrite in patients with hypertension or pulmonary hypertension?

## Eligibility criteria

This scoping review included studies with patients with hypertension or pulmonary hypertension, regardless of stage (1, 2, or 3), without age or gender restrictions, in any language, and without limitations on ethnicity, date, or publication status. Experimental and quasi-experimental study designs were considered, including randomized controlled trials, non-randomized controlled trials, before-and-after studies, and interrupted time series studies. In addition, analytical and descriptive observational studies, systematic reviews, scoping reviews, integrative reviews, bibliometric reviews, overviews, and opinion articles. The analysis excluded studies with hypertensive patients treated with a substance other than sodium nitrite with an outcome other than the one of interest and studies available only in abstract format or without detailed data. Letters, commentaries, editorials, and opinion articles were also excluded, as they are inadequate sources to meet the objectives of this review.

## Information sources and search strategy

The search strategy was aimed at locating published and unpublished studies. An initial limited search was first performed in MEDLINE (PubMed), as appropriate, to identify articles on the topic. We sought to identify keywords in the titles and abstracts, as well as indexed terms (MeSH/CINAHL Headings), to develop a complete search strategy (Pollock et al. 2023).

After identifying the relevance of the implemented strategy, the protocol was registered. The final search was then carried out on November 11, 2024. The databases used were PubMed and Embase (conceptual databases), Web of Science and Scopus (specialized and optional), and LILACS (regional). MeSH, DeCS, and Emtree descriptors were crossed with the Boolean operators “AND” (inter-category) and “OR” (intra-category), as demonstrated in Appendix 1. Adaptations to the search strategy were made considering the particularity of each selected database. The reference list of articles included in the review was screened for additional articles. We also contacted influential authors in the field, looking for articles that could be included. In addition, preprint servers, such as Biorxiv and Medrxiv, as well as Capes and Google Scholar, were included to ensure comprehensive coverage of available research.

## Selection of sources of evidence

After searching the information sources, the retrieved studies were exported to the EndNote® (Clarivate Analytics, PA, EUA) and Rayyan® (Rayyan Systems Inc., Cambridge, MA, USA) software in order to remove duplicates (Ouzzani et al. 2016). The selection of studies was carried out by two independent evaluators (JMR and LOM). Titles and abstracts were included following the predefined criteria for inclusion in this scoping review. Subsequently, the full text of those selected was read. Any disagreement between evaluators during the selection process was resolved through discussion or with the intervention of a third evaluator (LHLT).

## Data extraction

Independently, two reviewers (JMR and ABS) extracted data from the studies selected in this scoping review. The extracted data provided characteristics of the studies (title, year, author, number of participants, male and female ratio, age, type of hypertension), the intervention (route of administration, average daily dose, and frequency of administration), and finally the main outcomes and adverse effects, following the PCC framework (Peters et al. 2022). Researchers classified studies without a defined study type according to Hochman et al. 2005. Statistical analysis (T-test) was performed in two studies (Mason 1924; Weiss and Ellis 1933) that did not have it; values with  $p < 0.05$  were considered statistically different.

## Data analysis and presentation

The basic qualitative content analysis method combined inductive and deductive approaches. General categories were created and coded in order to identify concepts, themes, and characteristics in the raw data. These categories then formed variables of interest in the extraction instrument developed (Peters et al. 2022). Subsequently, the categories were grouped into similar ideas, which enabled a systematic organization, simplifying the understanding of the information and facilitating the identification of trends, patterns, and relevant data related to the question of this review (Peters et al. 2022). Additionally, synthesis images and a global choropleth map were generated, representing the percentage of articles published by country, to present the results visually and graphically. The search strategy and the selection process results were represented in a PRISMA-ScR flowchart. The data were presented in descriptive and tabular formats, following the guidelines of the Joanna Briggs Institute (Pollock et al. 2023).

## Results

A total of 1288 publications were identified through database searches, along with 208 records in the gray literature, expert consultations, and reference lists of the selected studies. After the screening process, nine articles were included (Fig. 1).

## Study characteristics

From the selected studies, seven assessed both the efficacy and safety of sodium nitrite administration (Hughan et al. 2020; Rosenbaek et al. 2017; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al. 2016; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933; Yingchoncharoen et al. 2018), while two studies focused exclusively on efficacy (Bashline et al. 2020; Mason 1924). Table 1 shows the characteristics of the included studies. The articles were published between 1924 and 2022. It can be seen in Fig. 2 that the United States was the country that most investigated the use of nitrite in hypertension (66.6%), followed by Thailand (22.2%) and Denmark (11.1%). The number of participants was small in all articles, ranging from 6 to 53 participants. Participants ranged in age from 20 to 77 years, with no marked sex predominance among them. Two articles did not report the sex of the participants (Mason 1924; Weiss and Ellis 1933). The studies explored the use of nitrite in both hypertension (Hughan et al. 2020; Mason 1924; Rosenbaek et al. 2017; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933) and pulmonary hypertension, covering groups 1 (Simon et al. 2016), 2 (Bashline et al. 2020; Simon et al. 2016), 3 (Simon et al. 2016), and 5 (Sasiprapha et al. 2022; Yingchoncharoen et al. 2018) of the Pulmonary Hypertension classification according to the WHO (Humbert et al. 2023; Ryan et al. 2012). The most prevalent comorbidity in the studied subjects was hyperlipidemia ( $n = 31$ ), followed by diabetes mellitus ( $n = 27$ ), obesity ( $n = 23$ ), metabolic syndrome ( $n = 20$ ), coronary artery disease ( $n = 15$ ),  $\beta$ -thalassemia ( $n = 13$ ), kidney diseases ( $n = 10$ ), sleep apnea ( $n = 8$ ), atrial fibrillation ( $n = 5$ ),  $\alpha$ -thalassemia ( $n = 3$ ), myocardial degeneration ( $n = 3$ ), migraine ( $n = 2$ ), and at least 5 patients presented atherosclerosis.

Table 2 shows the treatment characteristics. The number of patients who received nitrite and completed the study was small in all articles, ranging between 5 and 36 patients (Bashline et al. 2020; Hughan et al. 2020; Mason 1924; Rosenbaek et al. 2017; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al. 2016; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933; Yingchoncharoen et al. 2018). Daily doses ranged from 15 to 325 mg, administered orally (40 to 325 mg) (Hughan et al. 2020; Mason 1924; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis

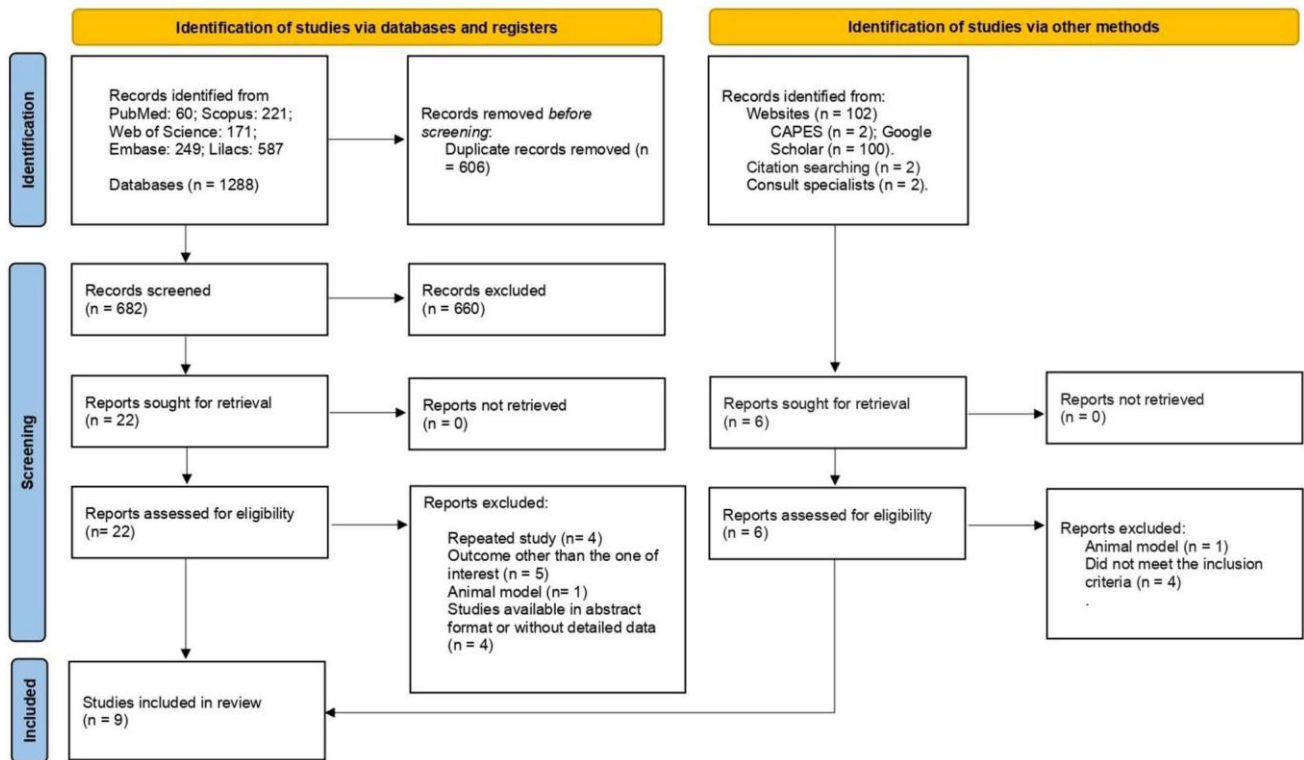


Fig. 1 Fluxogram PRISMA-ScR. The fluxogram illustrates the study selection process in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews

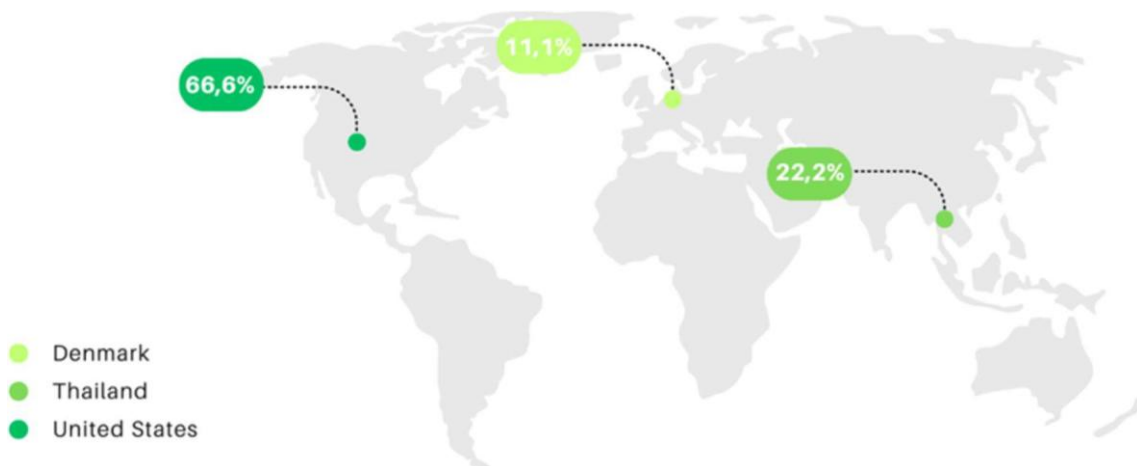


Fig. 2 Source of included studies. Choropleth map displaying the geographical distribution of the included studies

1933), inhaled (15 to 90 mg) (Bashline et al. 2020; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al. 2016; Yingchoncharoen et al. 2018), and intravenously (240 µg/kg/h) (Rosenbæk et al. 2018). Most studies (six studies) analyzed the acute effects of sodium nitrite, with administration one (Bashline et al. 2020; Rosenbæk et al. 2017; Simon et al. 2016; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933; Yingchoncharoen et al.

2018) and three (Mason 1924) times a day for 1 day. The studies by Sasiprapha et al. (2022) and Hughan et al. (2020) performed the treatment with two and three daily administrations for 12 weeks.

Table 3 exhibits the effectiveness and safety of the treatment. Only one study evaluated the use of nitrite in group 1 pulmonary hypertension. Using inhaled nitrite (45 and

**Table 1** Main characteristics of the studies included

Authors and year (country)	Total of participants included in study screening/meligible/eligible	N withdrawal of participants/justification	Mean age (SD) (years)	N (%) sex female/male	Diagnosis	Comorbidity (N)	Design study
Hughan et al. 2020 (USA)	387/367/20	0	52.4 ± 1.3	15 (75%)/5(25%)	Hypertension (25% stage 1; 75% stage 2)	Metabolic syndrome (20), obesity (20)	Clinical, single-arm, open-label
Rosenbak et al. 2018 (DK)	41/13/28	0	Control 58.9 ± NR hypertension 59.2 ± NR	Control 7(50%)/7(50%) hypertension 7(50%)/7(50%)	Essential hypertension (100%)	NR	Clinical, single-blinded, placebo-controlled, crossover study
Weaver et al. 1944 (USA)	NR/NR/38	0	Control 35 ± NR hypertension 53.89 ± 14.11	Control 9(47.36%)/10(52.63%) hypertension 7(36.84%)/12(63.16%)	Essential hypertension (100%)	NR	Clinical crossover
Weiss and Ellis (1933) (USA)	NR/NR/53	NR	51.13 ± 11.99	NR	Essential hypertension (100%)	Renal failure (9), atherosclerosis (NR)	Clinical
Mason 1924 (USA)	NR/NR/20	NR	44.58 ± 13.14	NR	Essential hypertension (100%)	Atherosclerosis (5), cholelithiasis (1), obesity (3), myocardial degeneration (3), migraine (2), nephritis (1), focal infection (1), dental sepsis (1)	Randomized clinical trial
Simon et al. 2016 (USA)	140/102/38	Pulmonary hypertension-HFpEF 1/decrease in systemic systolic pressure 1/musculoskeletal back pain	pulmonary hypertension-HFpEF: 67 ± 7 PAH: 56 ± 13 PH: 65 ± 5	Pulmonary hypertension-HFpEF 6(60%)/4(40%) PAH 13(65%) PH 7(35%) PH 2(33%)/4(67%)	Pulmonary hypertension-HFpEF (27.77%) PAH (55.5%) PH (16.66%)	CAD (9), hypertension (21), diabetes (17), hyperlipidemia (19)	Clinical, open-label
Yingchoncharoen et al. 2018 (TH)	NR/NR/6	1/systemic systolic pressure increased	40.8 ± 4.0	1 (20%)/4 (80%)	Pulmonary hypertension (100%)	HbE/β-thalassemia (5)	Clinical, open-label
Bashline et al. 2020 (USA)	20/4/16	2/decrease in blood pressure	70 ± 7	8(57%)/6(43%)	Pulmonary hypertension-HFpEF (100%)	CAD (6), hypertension (13), diabetes (10), hyperlipidemia (12), obstructive sleep apnea (8), atrial fibrillation (5)	Clinical, open-label

Table 1 (continued)

Authors and year (country)	Total of participants included in study screening/ineligible/eligible	N withdrawal of participants/justification	Mean age (SD) (years)	N (%) sex female/male	Diagnosis	Comorbidity (N)	Design study
Sasiprapha et al. (2022) (TH)	17/5/12	Placebo group 1/sudden cardiac death	Placebo 34.3 ± 9.4 nitrite 39.6 ± 9.4	Placebo 5(83.4%)/1(16.6%) nitrite 3(60%)/2(40%)	Pulmonary hypertension (100%)	β-Talassemia (8), α-talassemia (3)	Clinical, randomized, double-blind, placebo-controlled

CAD, coronary artery disease; DK, Denmark (Dinamarca); N, absolute number of participants; NR, not reported; SD, standard deviation; *pulmonary hypertension-HFpEF*, pulmonary hypertension owing to heart failure with preserved ejection fraction; *PH*, pulmonary arterial hypertension; *TH*, Thailand; USA: United States of America

90 mg), Simon et al. (2016) observed that the higher dosage significantly decreased mean arterial pressure (MAP), right atrial pressure (RAP), and pulmonary capillary wedge pressure (PCWP), however, without a significant decrease in mean pulmonary artery pressure (mPAP).

In group 2 of pulmonary hypertension, two studies demonstrated a decrease in mPAP, RAP, and PCWP with inhaled doses of 45 and 90 mg. In addition, the study by Simon et al. (2016) demonstrated an increase in pulmonary vascular resistance and a decrease in MAP.

In group 5 of pulmonary hypertension and thalassemia, the studies used different approaches, and both found a decrease in mPAP (Sasiprapha et al. 2022; Yingchoncharoen et al. 2018). Yingchoncharoen et al. (2018) performed an acute treatment, and this effect was only observed in the middle of the treatment. Sasiprapha et al. (2022) performed a 12-week treatment of nitrite associated with sildenafil, and mPAP decreased throughout the treatment, with a significant difference at the end of this period. Furthermore, both studies reported an increase in right ventricular systolic pressure (RVSP).

Five studies evaluated the effect of sodium nitrite on essential hypertension, and all of them found a decrease in systolic and diastolic pressure (Hughan et al. 2020; Mason 1924; Rosenbæk et al. 2018; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933). Only one of the four experimental groups in the study by Weiss and Ellis (1933) did not find a significant decrease. In most studies, the decrease in systolic pressure was more pronounced than in diastolic pressure (Hughan et al. 2020; Mason 1924; Rosenbæk et al. 2018; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933). In the study by Rosenbæk et al. (2018), it was observed that systolic pressure had a greater drop in hypertensives than in the placebo group treated with nitrite. The study by Hughan et al. (2020) showed a greater effect of sodium nitrite in the middle of the treatment, observing tolerance from the tenth week on.

In order to evaluate the safety of sodium nitrite, four studies showed the formation of methemoglobin. Sasiprapha et al. (2022) and Yingchoncharoen et al. (2018) showed that there was no significant difference in methemoglobin formation, although in the study by Sasiprapha et al. (2022), a single patient had an asymptomatic increase from 3.4 to 8.1% of methemoglobin. Simon et al. (2016) observed a significant increase in methemoglobin levels only in group 1 of pulmonary hypertension. Hughan et al. (2020) found a significant increase in methemoglobin levels in their work with the use of sodium nitrite for 12 weeks. Except for the patient belonging to the work of Sasiprapha et al. (2022), no study demonstrated an increase above the maximum allowable rate (5%) (Ludlow et al. 2023).

Most studies reported only mild adverse drug reactions (ADRs) associated with nitrite use (Hughan et al. 2020; Rosenbæk et al. 2018; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al.

**Table 2** Treatment characteristics: number of participants, route of administration, daily doses, treatment period, and place of treatment

Authors and year of publication	N of participants who completed study/participants who received nitrite	Dose	Route of administration	Mean daily dose (SD) mg	Daily frequency of administration	Treatment period	Place of treatment
Hughan et al. 2020, USA	20/20	40 mg	Oral	120 mg	3 times a day	12 w	University of Pittsburgh Montefiore Hospital Clinical and Translational Research Center
Rosenbæk et al. 2018, DK	28/14	240 µg/kg/h	Intravenous	240 µg	2 h	1 d	Regional Hospital West Jutland
Weaver et al. USA 1944,	38/30 (13 normotensive/17 hypertensive)	130 or 65 mg	Oral	130 mg	1 time a day	1 d	Strong Memorial Hospital and Rochester Municipal Hospital
Weiss and Ellis 1933, USA	53/29	65–325 mg	Oral	325 mg	1 time a day	1 d	Boston City Hospital
Mason 1924, USA	20/14	195 mg	Oral	195 mg	3 times a day 30/30 min	1 d	NR
Simon et al. 2016, USA	36/36	45 and 90 mg	Inhalation	135 mg	1 time a day	1 d	Heart and Vascular Institute
Yingchoncharoen et al. 2018, TH	5/5	15 and 40 mg	Inhalation	55 mg	1 time a day	1 d	Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital and Thalassemia Research Center, Institute of Molecular Biosciences,
Bashline et al. 2020, USA	14/14	45 and 90 mg	Inhalation	135 mg	1 time a day	1 d	Presbyterian University Hospital
Sasiprapha et al. 2022, TH	11/5	30 mg	Inhalation	60 mg	2 times a day	12 w	Chakri Naruebodindra Medical Institute, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital

DK, Denmark; TH, Thailand; N, absolute number of participants; NR, not reported; h, hours; d, days; w, week; USA: United States of America

2016; Weaver et al. 1944; Yingchoncharoen et al. 2018). The observed ADRs are more severe with increasing dosage. No correlation was found between the treatment duration and ADRs. The influence of the dosage and route of administration on the severity and type of adverse effects is summarized in Fig. 3.

## Discussion

To our knowledge, this is the first review to systematically evaluate the effectiveness and safety of sodium nitrite for hypertension and pulmonary hypertension treatment. The reviewed studies used sodium nitrite to treat essential arterial hypertension, reporting an effective dose ranging from 240 µg/kg/h (I.V.) to 325 mg (oral) (Hughan et al. 2020; Mason 1924; Rosenbæk et al. 2018; Weaver et al. 1944;

Weiss and Ellis 1933). Among the studies that observed an effect, only Weiss and Ellis (1933) found no decrease in one of the doses tested (130 mg). This may be a result of the very limited sample size, given the fact that later work was carried out with the same dosage and a larger experimental group with positive results (Weaver et al. 1944).

Only one study evaluated the use of nitrite for the chronic treatment of essential hypertension (Hughan et al. 2020). The treatment lasted 12 weeks and resulted in a significant decrease in MAP, but tolerance was observed after 10–12 weeks, indicating the need for additional mechanistic studies and dosage titration. For acute treatment, four studies demonstrated favorable outcomes (Mason 1924; Rosenbæk et al. 2018; Weaver et al. 1944; Weiss and Ellis 1933). Weaver et al. (1944) indicated onset (135 mg/oral) of action after 7 min of administration and with a duration of 62 min. Mason (1924) observed that nitrite administration

**Fig. 3** Adverse effects observed by dose and route of administration of sodium nitrite



has a rapid onset, with effects that diminish within 62 min. However, these results are from old studies with little methodological rigor, lacking more robust research.

Simon et al. (2016) investigated the effects of sodium nitrite in patients with pulmonary hypertension (pulmonary hypertension) across groups 1, 2, and 3. In group 1, acute inhalation treatment with 135 mg of sodium nitrite, alongside background therapy, did not reduce mPAP. However, improvements were seen in RAP, PCWP, and RVDP. Despite these benefits, the lack of improvement in mPAP, coupled with increased pulmonary vascular resistance (PVR), raises concerns about the risk of right ventricular failure and subsequent mortality (Boucly et al. 2023). In the same study, group 3 patients with pulmonary hypertension exhibited significant reductions in mPAP, MAP, RAP, PCWP, and RVDP, along with improvements in pulmonary compliance

and PVR. However, 33% of these patients were on phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE5i), which have a synergistic effect with nitrite, 33% were on endothelin receptor antagonists, and 17% were on prostacyclin. The study did not clarify whether these medications were in effect during the evaluations, which could have influenced the results.

Two studies (Bashline et al. 2020; Simon et al. 2016) evaluated the effects of a 135 mg dose of inhaled sodium nitrite in patients with pulmonary hypertension associated with heart failure and preserved ejection fraction. Both studies suggested that nitrite substantially reduced PCWP and mPAP, improving pulmonary vascular compliance. This improvement in compliance likely contributed to a decrease in right ventricular workload, which is notable given that right ventricular dysfunction is a leading cause of mortality in this patient population (Rosenkranz et al. 2016). However,

**Table 9** Outcome characteristics: treatment effectiveness and security

Authors and year of publication	Security			Main results (mean ± EPM)	Conclusions
	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) pre-drug	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) post-drug (mean ± EPM)	Methemoglobin pre-drug		
Hughan et al. 2020, USA	#SP/DP/MAP: 146/87/99.2	#SP/DP/MAP: -10/-13/-12 (97.0)*	1.0–1.2%	Development of tolerance after 10–12 weeks of therapy and substantial increase in baseline vascular diameter	Nitrite significantly lowered systolic, diastolic, and mean arterial pressures. None of the adverse events necessitated drug discontinuation or dose adjustment
Rosenback et al. 2018, DK	#SP/DP/MAP: Control: 119/69/NR Hypertension: 139/81/NR	#SP/DP/MAP: Control: 111/64/NR Hypertension: 126 (-12)*/73 (-10)/NR	NR	240 µg/kg/h / headache (14.2%) Dizziness (7.1%) Short-term paraesthesia (7.1%)	The blood pressure-lowering effect of nitrite in patients with essential hypertension occurred without any serious adverse effects
Weaver et al. 1944	#SP/DP/MAP: 184/104/NR	#SP/DP/MAP: -21/-1/NR	NR	130 mg/occipital pounding (3.5%) Nausea followed by vomiting (3.5%)	Oral nitrite significantly lowered systolic pressure without serious adverse effects The interval between drug administration and onset was 7 min, with an average duration of blood pressure reduction lasting 62 min

Table 3 (continued)

Authors and year of publication	Security				Conclusions
	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) pre-drug	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) post-drug (mean ± EPM)	Methemoglobin drug	Methemoglobin post-drug	
Weiss and Ellis (1933), USA	#SP/DP/MAP for one, two, three and five grains: 65 mg: 212.6/121/166.8 130 mg: 212/128/170 195 mg: 219.3/117.4/168.37 325 mg: 201.66/109.7/155.7	#SP/DP/MAP for one, two, three, and five grains: 65 mg: 183.4/116/149.7 130 mg: 189.5/117.5/153.5 195 mg: 170.3/100/135.16 325 mg: 162.73/92.73/127.33	NR	NR	The use of sodium nitrite in routine treatment for arterial hypertension, with the goal of maintaining blood pressure at a relatively low level, is illogical and may pose risk
Mason 1924, USA	#SP/DP/MAP 188.75/116.25/152.5	#SP/DP/MAP for onset, after 1 h Onset: 152/96.83/124.41 After 1 h: 160.5/103.5/132	NR	NR	Sodium nitrite lowering the blood pressure Safety was not evaluated in this study
				65 mg: no adverse effects 130 mg: Slight flush (25%) 195 mg: headache (25%) Slight palpitation (8.3%) Faint and pale (8.3%) Cyanotic (8.3%) Stuporous (8.3%) 325 mg: Headache (46.66%) Cyanosis (20%) Dizzy (6.6%) Stuporous (6.6%) Weak (6.6%) NR	In 21 of the 35 cases, nitrite led to a reduction in arterial blood pressure. In one instance, pressure dropped from 240/130 mmHg to 80/70 mmHg
				A dose of 195 mg of sodium nitrite was sufficient to cause a reduction in blood pressure in hypertensive cases, except for two subjects	

Table 3 (continued)

Authors and year of publication	Security				Dose/adverse effects mean (SD) or N% pvalue	Main results (mean ± EPM)	Conclusions
	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) pre-drug	Mean arterial pressures (SBP/DBP (mmHg)) post-drug (mean ± EPM)	Methemoglobin drug	Methemoglobin post-drug			
Simon et al. 2016, USA	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP for pulmonary hypertension-HFpEF/PAH/HP pulmonary hypertension-HFpEF: 136(69)/90/56/24/33.6 PAH: 112(67)/84/71/26/40.5 pulmonary hypertension: 137/74/94/64/27/39.9	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP for pulmonary hypertension-HFpEF/PAH/PH /-5.4/-9.9/-4.6/-7.9 PAH: -7.5/-3.8/-5.1/-3.2/-1.2/-0.9 pulmonary hypertension: -10.9/-5.2/-7.5/-6.1/-4.4/-4.8	pulmonary hypertension-HFpEF: 0.8 PAH: 0.8 PH: 1.0	pulmonary hypertension-HFpEF: 0.16 PAH: 0.29 PH: 0.18	90 mg/cough (2.7%)	HFpEF: Significant decrease in RAP, PCWP, and RVSP, RVDP HAP: Significant decrease in RAP, PCWP and RVDP PH Significant decrease in RAP, PCWP, and RVSP	Inhaled nitrite is safe in pulmonary hypertension patients and may be efficacious in pulmonary hypertension-HFpEF and Group 3 pulmonary hypertension primarily
Yingschoncharoen et al. 2018, TH	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP NR/NR/NR/NR/36.4	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP 124/63.8/86.6/55/17.6/31.8***	3.3	4.4	NR	Acute decrease in RVSP	Sodium nitrite rapidly acute decreased pulmonary artery pressure in β-thalassemia subjects and was well tolerated in patients
Bashline et al. 2020, USA	##SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP ##NR/NR/100/NR/NR/37	##SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP NR/NR/NR/NR/27	NR	NR	NR	Significant decrease in RAP and PCWP. In addition to decreasing the total work and efficiency of the right ventricle	Reduced right atrial pressure and mean pulmonary artery pressure

Table 3 (continued)

Authors and year of publication	Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg))		Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) pre-drug		Mean arterial pressures (SBP*/DBP** (mmHg)) post-drug		Security		Conclusions		
	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP for placebo/nitrite	#SP/DP/MAP/PAS/PAD/mPAP for placebo/nitrite	placebo: NR/NR/NR/NR/45.7	nitrite: NR/NR/NR/NR/25.8	placebo: 107.5/68.2/81.3	nitrite: 117.4/66.2/83.3	Methemoglobin pre-drug	Methemoglobin post-drug		Dose/adverse effects (mean (SD) or N% pvalue)	Main results (mean ± EPM)
Sasiprapha et al. 2022, TH	117.4/66.2/83.3	NR/NR/33.6	NR/NR/NR/NR/45.7	NR/NR/NR/NR/25.8	107.5/68.2/81.3	117.4/66.2/83.3	Placebo: 2.72 ± 0.87 Nitrite: 2.54 ± 1.29	No significant changes in methemoglobin levels were found in the nitrite group	60 mg/mild dizziness (9.0%), headache (9.0%)	Decreased RVSP	Treatment with sildenafil and sodium nitrite was effective and safe in patients with type 5 pulmonary hypertension

Values in bold: statistical difference for sodium nitrite effect. #media. ##media. \*; significant result in the middle of the treatment. \*\*\*; 13.5% decrease in mPAP during inhalation of 15 mg sodium nitrite. DP, diastolic blood pressure; DK, Denmark; MAP, media arterial pressure; mPAP, media arterial pressure; mini, minutes; N, absolute number of participants; NR, not reported; NS, not significant; SP, systolic blood pressure; PAD, diastolic pulmonary pressure; PAS, systolic pulmonary pressure; RVP, right atrial pressure; PCWP, pulmonary capillary wedge pressure; RVDP, right ventricular diastolic pressure; RVSP, right ventricular systolic pressure; TH: Thailand, USA: United States of America

both studies also noted transient decreases in systolic blood pressure that met safety stop criteria, resulting in three patients discontinuing treatment.

Only two studies addressed nitrite treatment in group 5 of pulmonary hypertension. Acute treatment with doses of 55 mg of inhaled sodium nitrite, observing a rapid and effective decrease in mPAP and PSRV, was considered a short-term effect since the pressure returned to baseline at the end of inhalation, which may be useful as short-term rescue therapy (Yingchoncharoen et al. 2018). The second study, carried out by Sasiprapha et al. (2022), analyzed chronic treatment with 60 mg of nitrite associated with inhaled Sildenafil for 12 weeks, and at the end of the period, patients demonstrated lower mPAP and PSRV than the placebo group, which did not present hypotension. Thus, the use of nitrite alone or in combination with sildenafil for acute or chronic treatment showed promising effects, but further research is necessary to better evaluate its use in these groups.

In terms of safety, nitrite treatment was considered safe at daily doses up to 135 mg, with minimal risk of methemoglobinemia. The mild ADRs found in the studies did not require dose reduction or treatment discontinuation, indicating good tolerability (Hughan et al. 2020; Rosenbæk et al. 2018; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al. 2016; Weaver et al. 1944; Yingchoncharoen et al. 2018). Despite most studies administering nitrite only once, the ADRs remained mild when extending the treatment for 12 weeks. One study (Weiss and Ellis 1933) reported more serious ADRs, including cyanosis and fainting, but these were attributed to doses three times higher than the therapeutic range (De Van et al. 2016; Rosenbæk et al. 2017; Sasiprapha et al. 2022), and only one patient showed an 8.1% increase in methemoglobin after 12 weeks of treatment, without associated symptoms (Sasiprapha et al. 2022).

However, the studies included in this scoping review did not address the potential adverse effects associated with the interaction between nitric oxide and the pro-oxidant environment characteristic of hypertension. While the NO released can induce vasodilation and reduce blood pressure, its interaction with the pro-oxidant environment can lead to the formation of peroxynitrite and nitroxyl radicals, which are potent oxidants. When formed in excess, these species can modify lipids, proteins, and DNA, exacerbating vascular damage and limiting the efficacy of treatment (Piacenza et al. 2022; Franco et al. 2022). Furthermore, the formation of reactive nitrogen species may contribute to vascular resistance to vasodilation, potentially worsening the hypertensive condition (Griendling et al. 2021; Radi 2018; Rawat et al. 2022). The lack of evaluations of these effects in the reviewed publications highlights a significant gap in the literature. Future studies investigating the pro-oxidant impacts of sodium nitrite use in clinical settings would help elucidate the safety and efficacy of its therapeutic application, considering

both the benefits and risks associated with the formation of reactive nitrogen species.

Moreover, it is crucial to balance the therapeutic benefits of chronic NaNO<sub>2</sub> use in hypertension with the long-term risks. In this context, prolonged nitrite exposure and accumulation of nitrosamines have been associated with hepatotoxicity and carcinogenicity, as evidenced by preclinical studies. In a mouse model exposed to NaNO<sub>2</sub> for 6 months, increased hepatic oxidative stress, metabolic dysfunction, and upregulation of lipid metabolism factors were observed, with these alterations partially reversed through activation of the Nrf2/HO-1 pathway (Yang et al. 2024). Additionally, chronic treatment with NaNO<sub>2</sub> was shown to enhance both spontaneous and 1,2-dimethylhydrazine-induced carcinogenesis, an alkylating carcinogen, increasing the incidence of leukemia, lung cancer, and multiple tumors in a dose-dependent manner (Il'nitskiĭ et al. 2004). In epidemiological studies, high consumers of nitrites as food additives exhibited a higher risk of prostate cancer, while nitrates were associated with breast cancer. Conversely, natural intake of nitrates/nitrites showed no significant association with cancer (Chazelas et al. 2022). Although some studies did not find a significant increase in cancer incidence with nitrite use, the formation of nitrosamines remains a concern (Chazelas et al. 2022; Coss et al. 2004).

Furthermore, in the studies where no adverse effects were reported, the authors primarily focused on evaluating the efficacy of sodium nitrite treatment, without a detailed analysis of potential adverse effects. It is worth noting that only one of these studies was conducted several decades ago (Edward C. Mason 1924), a period when reporting standards for adverse events were less rigorous. Reporting standards have evolved over the decades assessed in this review, which may influence the comprehensiveness of data collected regarding adverse effects. Earlier studies might not have employed the rigorous methodologies or criteria for adverse effect evaluation that are standard today. In more recent studies, such as those by Bashline et al. (2020) and Yingchoncharoen et al. (2018), although reporting standards are more comprehensive, adverse effects were not the primary focus. The absence of reported adverse effects does not necessarily imply their non-existence; it may reflect limitations in study design or reporting practices. These limitations highlight the need for future research to comprehensively assess not only the efficacy but also the long-term safety of sodium nitrite in clinical settings.

Other studies' limitations should be considered. It is important to point out that some patients discontinued treatment due to a marked decrease in systemic systolic pressure (Bashline et al. 2020; Simon et al. 2016), and one patient experienced musculoskeletal back pain without requiring medical attention (Simon et al. 2016). Also, the sample size is limited in all studies, which can induce false-positive results as well as make it difficult to detect statistical differences (Wang and Ji 2020). Moreover, the absence of control groups in the studies by Bashline et al. (2020), Hughan et al. (2020), Mason (1924), Simon et al. (2016), Weaver et al. (1944), Weiss and Ellis (1933), and Yingchoncharoen et al. (2018) is also a limitation. The control group could dispel the doubt that the effect found is not due to nitrite but rather the result of the prolonged rest time after inhalation of the drug. Most of the included studies have possible confounding factors, as the use of medications that interfere with the NO to nitrite conversion pathway in some studies may induce favorable results (Bashline et al. 2020; Rosenbæk et al. 2018; Sasiprapha et al. 2022; Simon et al. 2016). And the old studies, dating back to the 1920s, 1930s, and 1940s, lack the scientific rigor of current clinical research.

## Conclusion

The current data indicate that high-quality evidence remains insufficient to thoroughly assess the effectiveness and safety profile of sodium nitrite in treating hypertension and pulmonary hypertension. Methodological inconsistencies, limited sample sizes, and short treatment durations contribute to conflicting findings, limiting its applicability. While the reviewed data suggests effectiveness and general safety for essential hypertension and pulmonary hypertension groups 2, 3, and 5, important gaps remain. Notably, the potential formation of reactive nitrogen species in a pro-oxidant environment, characteristic of hypertension, was not addressed and could reduce efficacy or exacerbate damage. Long-term safety is another concern, with preclinical studies suggesting risks such as hepatotoxicity, metabolic dysfunction, and carcinogenicity under chronic exposure, particularly due to nitrosamine formation. These gaps highlight the need for future studies to evaluate both long-term safety and the impact of oxidative interactions. Until then, sodium nitrite's use should be guided by a careful balance of risks and benefits.

## Appendix 1

See Appendix Table 4.

**Table 4** Database search strategy

Database		Search strategy	N
PUBMED (11/11/24)	#1	("Hypertension"[Mesh]) OR ("High Blood Pressure") OR ("High Blood Pressures") OR ("hypertensive patients") OR ("Essential Hypertension"[Mesh]) OR ("Primary Hypertension") OR ("Hypertension, Pulmonary"[Mesh]) OR ("Pulmonary Hypertension") OR ("Hypertension, Renal"[Mesh]) OR ("Renal Hypertension") OR ("Renal Hypertensions") OR ("Hypertension, Renovascular"[Mesh]) OR ("Renovascular Hypertension") OR ("Goldblatt Hypertension") OR ("Goldblatt Syndrome") OR ("Hypertensive Crisis"[Mesh]) OR ("Hypertensive Crises") OR ("Hypertensive Emergency") OR ("Hypertensive Emergencies") OR ("Hypertensive Urgency") OR ("Hypertensive Urgencies") OR ("Hypertensive Retinopathy"[Mesh]) OR ("Hypertensive Retinopathies") OR ("Hypertension, Portal"[Mesh]) OR ("Portal Hypertension") OR ("Portal Hypertensions") OR ("Ocular Hypertension"[Mesh]) OR ("Ocular Hypertensions") OR ("Pulmonary Arterial Hypertension"[Mesh]) OR ("Hypertension, Pregnancy-Induced"[Mesh]) OR ("Pregnancy-Induced Hypertension") OR ("Pregnancy Induced Hypertension") OR ("Gestational Hypertension")	505,574
	#2	("Sodium Nitrite"[Mesh]) OR ("Nitrite, Sodium")	1,858
	(#1)AND(#2)		60
LILACS (11/11/24)	#1	(Hipertensão) OR (Hypertension) OR (Hipertensión) OR (Hipertensão Arterial) OR (Hipertensão Arterial Sistêmica) OR (Pressão Arterial Alta) OR (Pressão Sanguínea Alta) OR (High Blood Pressure) OR (High Blood Pressures) OR (Presión Sanguínea Alta) OR (Hipertensão Essencial) OR (Essential Hypertension) OR (Hipertensión Esencial) OR (Hypertension essentielle) OR (Hipertensão Primária) OR (Hipertensão Pulmonar) OR (Pulmonary Hypertension) OR (Hipertensión Pulmonar) OR (Hipertensão Arterial Pulmonar) OR (Pulmonary Arterial Hypertension) OR (Hipertensión Arterial Pulmonar) OR (Hipertensão Renal) OR (Hipertensión Renal) OR (Hipertensão Renovascular) OR (Hipertensión Renovascular) OR (Hipertensão de Goldblatt) OR (Retinopatia Hipertensiva) OR (Hypertensive Retinopathy) OR (Retinopatía Hipertensiva) OR (Hipertensão Portal) OR (Síndrome de Cruveilhier-Baumgarten) OR (Cruveilhier Baumgarten Syndrome) OR (Cruveilhier-Baumgarten Disease) OR (Cruveilhier-Baumgarten Syndrome) OR (Hypertensions, Portal) OR (Portal Hypertension) OR (Portal Hypertensions) OR (Hipertensión Portal) OR (Síndrome de Cruveilhier-Baumgarten) OR (Hipertensão Ocular) OR (Ocular Hypertension) OR (Hipertensión Ocular) OR (Suspeita de Glaucoma) OR (Hipertensão Induzida pela Gravidez) OR (Hipertensión Inducida en el Embarazo) OR (Hipertensão Gestacional) OR (Hipertensão Induzida por Gravidez)	834,809
	#2	(Nitrito de Sódio) OR (Sodium Nitrite) OR (Nitrito de Sodio)	9,367
	#1 AND #2		587
WEB OF SCIENCE (11/11/24)	#1	TS=(("Hypertension) OR ("High Blood Pressure") OR ("High Blood Pressures") OR ("hypertensive patients") OR ("Essential Hypertension") OR ("Primary Hypertension") OR ("Pulmonary Hypertension") OR ("Renal Hypertension") OR ("Renal Hypertensions") OR ("Renovascular Hypertension") OR ("Goldblatt Hypertension") OR ("Goldblatt Syndrome") OR ("Hypertensive Crisis") OR ("Hypertensive Crises") OR ("Hypertensive Emergency") OR ("Hypertensive Emergencies") OR ("Hypertensive Urgency") OR ("Hypertensive Urgencies") OR ("Hypertensive Retinopathy") OR ("Hypertensive Retinopathies") OR ("Portal Hypertension") OR ("Portal Hypertensions") OR ("Ocular Hypertension") OR ("Ocular Hypertensions") OR ("Pulmonary Arterial Hypertension") OR ("Pregnancy-Induced Hypertension") OR ("Pregnancy Induced Hypertension") OR ("Gestational Hypertension"))	606,103
	#2	TS=(("Sodium Nitrite") OR ("Nitrite, Sodium"))	5,626
	#1 AND #2		171

**Table 4** (continued)

Database		Search strategy	N
Scopus (11/11/24)	#1	"Hypertension" OR "High Blood Pressure" OR "High Blood Pressures" OR "hypertensive patients" OR "Essential Hypertension" OR "Primary Hypertension" OR "Hypertension, Pulmonary" OR "Pulmonary Hypertension" OR "Hypertension, Renal" OR "Renal Hypertension" OR "Renal Hypertensions" OR "Hypertension, Renovascular" OR "Renovascular Hypertension" OR "Goldblatt Hypertension" OR "Goldblatt Syndrome" OR "Hypertensive Crisis" OR "Hypertensive Crises" OR "Hypertensive Emergency" OR "Hypertensive Emergencies" OR "Hypertensive Urgency" OR "Hypertensive Urgencies" OR "Hypertensive Retinopathy" OR "Hypertensive Retinopathies" OR "Hypertension, Portal" OR "Portal Hypertension" OR "Portal Hypertensions" OR "Ocular Hypertension" OR "Ocular Hypertensions" OR "Pulmonary Arterial Hypertension" OR "Hypertension, Pregnancy-Induced" OR "Pregnancy-Induced Hypertension" OR "Pregnancy Induced Hypertension" OR "Gestational Hypertension"	1.044.692
	#2	"Sodium Nitrite" OR "Nitrite, Sodium"	8.961
	#1 AND #2		221
Embase (11/11/24)	#1	"hypertension"/exp OR "hypertensive patient"/exp OR "essential hypertension"/exp OR "pulmonary hypertension"/exp OR "renovascular hypertension"/exp OR "hypertensive crisis"/exp OR "hypertensive emergency"/exp OR "hypertensive urgency"/exp OR "hypertension retinopathy"/exp OR "portal hypertension"/exp OR "intraocular hypertension"/exp OR "pulmonary hypertension"/exp OR "maternal hypertension"/exp	1.405.179
	#1 AND #2	"sodium nitrite"/exp	485

**Author contribution** Conceived and designed the research: JMR, CSC, TMR. Wrote the manuscript: JMR, CSC. Performed the review and critical analysis of the manuscript: LHLT, PLR, ABS, DAFOM, JETS, LOM. All authors discussed the results and commented on the manuscript. All authors reviewed and approved the manuscript. All authors of the paper have fulfilled the criteria for authorship. The authors confirm that no paper mill and artificial intelligence was used.

**Funding** This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES #001), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG#APQ-00946-23), and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq #302076/2022-0).

**Data availability** All source data for this work (or generated in this study) are available upon reasonable request.

## Declarations

**Competing interests** The authors declare no competing interests.

## References

Abbatati C, Abbas KM, Abbasi-Kangevari M, Abd-Allah F, Abdellahim A, Abdollahi M, Abdollahpour I, Abegaz KH, Abolhassani H, Aboyans V, Abreu LG, Abrigo MRM, Abualhasan A, Aburaddad LJ, Abushouk AI, Adabi M, Adekanmbi V, Adeoye AM, Adetokunboh OO, ..., Murray CJL (2020) Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* 396(10258):1223–1249. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2/ATTACHMENT/A535CF8F-9CAB-4A9D-B4DD-F83EF56082E1/MMC2B.PDF](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2/ATTACHMENT/A535CF8F-9CAB-4A9D-B4DD-F83EF56082E1/MMC2B.PDF)

Alqarni AA, Aldhahir AM, Alghamdi SA, Alqahtani JS, Siraj RA, Alwafi H, AlGarni AA, Majrshi MS, Alshehri SM, Pang L (2023) Role of prostanoids, nitric oxide and endothelin pathways in pulmonary hypertension due to COPD. *Front Med* 10:1275684. <https://doi.org/10.3389/FMED.2023.1275684>

Ataci/Ataabadi E, Golshiri K, Jüttner A, Krenning G, Danser AHJ, Roks AJM (2020) Nitric oxide-cGMP signaling in hypertension: current and future options for pharmacotherapy. *Hypertension* 76(4):1055–1068. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15856/ASSET/BD7D1D58-76D6-4CC0-A5EA-1E7E71AB2833/ASSETS/IMAGES/LARGE/HYPERTENSIONAHA.120.15856.FIG05.JPG>

Bashline MJ, Bachman TN, Helbling NL, Nouraei M, Gladwin MT, Simon MA (2020) The effects of inhaled sodium nitrite on pulmonary vascular impedance in patients with pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved ejection fraction. *J Card Fail* 26(8):654–661. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2020.04.006>

Benza RL, Simonneau G, Grünig E, Sandner P, Stasch JP (2024) The nitric oxide-soluble guanylate cyclase-cGMP pathway in pulmonary hypertension: from PDE5 to soluble guanylate cyclase. *Eur Respir Rev* 33(171). <https://doi.org/10.1183/16000617.0183-2023>

Boucly A, Gerges C, Savale L, Jaïs X, Jevnikar M, Montani D, Sitbon O, Humbert M (2023) Pulmonary arterial hypertension. *Presse Med* 52(3):104168. <https://doi.org/10.1016/J.LPM.2023.104168>

Chazelas E, Pierre F, Druesne-Pecollo N, Esseddik Y, Szabo De Edelenyi F, Agaesse C, De Sa A, Lutichia R, Gigandet S, Srouf B, Debras C, Huybrechts I, Julia C, Kesse-Guyot E, Allès B, Galan P, Herberg S, Deschasaux-Tanguy M, Touvier M (2022) Nitrites and nitrates from food additives and natural sources and cancer risk: results from the NutriNet-Santé cohort. *Int J Epidemiol* 51(4):1106–1119. <https://doi.org/10.1093/IJE/DYAC046>

Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, Yang BK, Waclawiw MA, Zalos G, Xu X, Huang KT, Shields

- H, Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Cannon RO, Gladwin MT (2003) Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med* 9(12):1498–1505. <https://doi.org/10.1038/nm954>
- Coss A, Cantor KP, Reif JS, Lynch CF, Ward MH (2004) Pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. *Am J Epidemiol* 159(7):693–701. <https://doi.org/10.1093/AJE/KWH081>
- D'Agostino A, Lanzafame LG, Buono L, Crisci G, D'Assante R, Leone I, De Vito L, Bossone E, Cittadini A, Marra AM (2024) Modulating NO–GC pathway in pulmonary arterial hypertension. *Int J Mol* 25(1):36. <https://doi.org/10.3390/IJMS25010036>
- De Van AE, Johnson LC, Brooks FA, Evans TD, Justice JN, Cruickshank-Quinn C, Reisdorph N, Bryan NS, McQueen MB, Santos-Parker JR, Chonchol MB, Bassett CJ, Sindler AL, Giordano T, Seals DR (2016) Effects of sodium nitrite supplementation on vascular function and related small metabolite signatures in middle-aged and older adults. *J Appl Physiol* 120(4):416. <https://doi.org/10.1152/JAPPLPHYSIOL.00879.2015>
- Dejam A, Hunter CJ, Tremonti C, Pluta RM, Hon YY, Grimes G, Partovi K, Pelletier MM, Oldfield EH, Cannon RO, Schechter AN, Gladwin MT (2007) Nitrite infusion in humans and nonhuman primates: endocrine effects, pharmacokinetics, and tolerance formation. *Circ* 116(16):1821–1831. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.712133/ASSET/12BDD879-70F4-4CFD-A901-B8331DB00D07/ASSETS/GRAPHIC/19FF6.JPEG>
- Elsherbini AM, Maysarah NM, El-Sherbiny M, Al-Gayyar MMH, Elsherbiny NM (2021) Glycyrrhizic acid ameliorates sodium nitrite-induced lung and salivary gland toxicity: impact on oxidative stress, inflammation and fibrosis. *Hum Exp Toxicol* 40(4):707–721. [https://doi.org/10.1177/0960327120964555/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_0960327120964555-FIG9.JPEG](https://doi.org/10.1177/0960327120964555/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0960327120964555-FIG9.JPEG)
- Franco C, Sciatti E, Favero G, Bonomini F, Vizzardi E, Rezzani R (2022) Essential hypertension and oxidative stress: novel future perspectives. *Int J Mol Sci* 23(22):14489. <https://doi.org/10.3390/IJMS232214489>
- Genovesi S, Giusani M, Orlando A, Lieti G, Viazzi F, Parati G (2022) Relationship between endothelin and nitric oxide pathways in the onset and maintenance of hypertension in children and adolescents. *Pediatr Nephrol (Berlin, Germany)* 37(3):537. <https://doi.org/10.1007/S00467-021-05144-2>
- Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM (2021) Oxidative stress and hypertension. *Circ Res* 128(7):993. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>
- Hochman B, Nahas FX, De Oliveira Filho RS, Ferreira LM (2005) Desenhos de pesquisa. *Acta Cirúrgica Brasileira* 20(SUPPL. 2):2–9. <https://doi.org/10.1590/S0102.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14930>
- Hughan KS, Levine A, Helbling N, Anthony S, Delany JP, Stefanovic-Racic M, Goodpaster BH, Gladwin MT (2020) Effects of oral sodium nitrite on blood pressure, insulin sensitivity, and intima-media arterial thickening in adults with hypertension and metabolic syndrome. *Hypertension* 76(3):866–874. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14930>
- Humbert M, Kovacs G, Hoepfer MM, Badagliacca R, Berger RMF, Brida M, Carlsen J, Coats AJS, Eseribano-Subias P, Ferrari P, Ferreira DS, Ghofrani HA, Giannakoulas G, Kiely DG, Mayer E, Meszaros G, Nagavci B, Olsson KM, Pepke-Zaba J, ..., Sitges M (2023) 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 61(1). <https://doi.org/10.1183/13993003.00879-2022>
- Ил'нитский AP, Ryzhova NI, Chudina AP, Nevzorova NI, Nekrasova EA (2004) Potentsiruiushchee deĭstvie nitrĭta natriia na razvitie spontannykh i induktivirovannykh 1,2- dimetilgidrazinom opukholeĭ u mysheĭ-samtsov F1 (C57Bl x CBA) [Sodium nitrite-induced potentiation of spontaneous and 1,2-dimethylhydrazine-induced carcinogenesis in male mice F1 (C57 B1xCBA)]. *Vopr Onkol* 50(6):683–8 (Russian)
- Kiowski W, Luscher TF, Linder L, Buhier FR (2021) The causal relationship between endothelin-1 and hypertension: focusing on endothelial dysfunction, arterial stiffness, vascular remodeling, and blood pressure regulation. *Life* 11(9):986. <https://doi.org/10.3390/LIFE11090986>
- Konukoglu D, Uzun H (2016) Endothelial dysfunction and hypertension. *Adv Exp Med Biol* 956:511–540. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2016\\_90](https://doi.org/10.1007/5584_2016_90)
- Kuczeriszka M, Wařowicz K (2022) Animal models of hypertension: the status of nitric oxide and oxidative stress and the role of the renal medulla. *Nitric Oxide* 125–126:40–46. <https://doi.org/10.1016/J.NIOX.2022.06.003>
- Ludlow JT, Wilkerson RG, Nappe TM (2023) Methemoglobinemia. *StatPearls*. Retrieved September 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537317/>
- Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT (2008) The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 7(2):156–167. <https://doi.org/10.1038/nrd2466>
- Lundberg JO, Gladwin MT, Weitzberg E (2015) Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 14(9):623–641. <https://doi.org/10.1038/nrd4623>
- Maron BA (2023) Revised definition of pulmonary hypertension and approach to management: a clinical primer. *J Am Heart Assoc* 12(8):29024. <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.029024/ASSET/60788FE5-3872-46A6-98BA-1229E55C026C/ASSETS/GRAPHIC/JAH38280-FIG-0004.PNG>
- Mason CE (1924) A note on water excretion as influenced by blood pressure response to sodium nitrite. *J Lab & Clin Med* 9:529–539
- Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A (2016) Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev* 5(1). <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>
- Peters MDJ, Godfrey C, McInerney P, Khalil H, Larsen P, Marnie C, Pollock D, Tricco AC, Munn Z (2022) Best practice guidance and reporting items for the development of scoping review protocols. *JBI Evid Synth* 20(4):953–968. <https://doi.org/10.11124/JBIES-21-00242>
- Piacenza L, Zeida A, Trujillo M, Radi R (2022) The superoxide radical switch in the biology of nitric oxide and peroxynitrite. *Physiol Rev* 102(4):1881–1906. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00005.2022>
- Pollock D, Peters MDJ, Khalil H, McInerney P, Alexander L, Tricco AC, Evans C, de Moraes ÉB, Godfrey CM, Pieper D, Saran A, Stern C, Munn Z (2023) Recommendations for the extraction, analysis, and presentation of results in scoping reviews. *JBI Evid Synth* 21(3):520–532. <https://doi.org/10.11124/JBIES-22-00123>
- Radi R (2018) Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 115(23):5839. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1804932115>
- Rawat M, Lakshminrusimha S, Vento M (2022) Pulmonary hypertension and oxidative stress: where is the link? *Semin Fetal Neonatal Med* 27(4):101347. <https://doi.org/10.1016/J.SINY.2022.101347>
- Ribeiro JM, de Marrafon DAFO, Santana AB, Torres LH, Dos Reis TM, Ceron CS (2024) Effects of nitrite in the hypertension treatment: a scope review. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/F97DR>
- Rosenbaek JB, Al Therwani S, Jensen JM, Mose FH, Wandall-Frostholm C, Pedersen EB, Bech JN (2017) Effect of sodium nitrite on renal function and sodium and water excretion and brachial and central blood pressure in healthy subjects: a dose–response study. *Am J Physiol Renal Physiol* 313(2):F378–F387. <https://doi.org/10.1152/AJPRENAL.00400.2016/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH20061782590001.JPEG>
- Rosenbaek JB, Hornstrup BG, Jørgensen AN, Mortensen J, Pedersen EB, Bech JN (2018) Effects of sodium nitrite on renal function

- and blood pressure in hypertensive vs. healthy study participants: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *J Hypertens* 36(3):666–679. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001598>
- Rosenkranz S, Gibbs JSR, Wachter R, De Marco T, Vonk-Noordegraaf A, Vachiéry JL (2016) Left ventricular heart failure and pulmonary hypertension. *Eur Heart J* 37(12):942–954. <https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/EHV512>
- Ryan JJ, Thenappan T, Luo N, Ha T, Patel AR, Rich S, Archer SL (2012) The who classification of pulmonary hypertension: a case-based imaging compendium. *Pulm Circ* 2(1):107–121. <https://doi.org/10.4103/2045-8932.94843>
- Sasiprapha T, Pussadhamma B, Sibmooh N, Sriwantana T, Pienvichit P, Chuncharunee S, Yingchoncharoen T (2022) Efficacy and safety of inhaled nitrite in addition to sildenafil in thalassemia patients with pulmonary hypertension: a 12-week randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Nitric Oxide-Biol Chem* 120:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2021.12.009>
- Simon MA, Vanderpool RR, Nouraie M, Bachman TN, White PM, Sugahara M, Goresan J, Parsley EL, Gladwin MT (2016) Acute hemodynamic effects of inhaled sodium nitrite in pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved ejection fraction. *JCI Insight* 1(18). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.89620>
- Stokes KY, Dugas TR, Tang Y, Garg H, Guidry E, Bryan NS (2009) Dietary nitrite prevents hypercholesterolemic microvascular inflammation and reverses endothelial dysfunction. *American Am J Physiol Heart Circ Physiol* 296(5):1281–1288. <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.01291.2008/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH40050987880004.JPEG>
- Tejero J, Shiva S, Gladwin MT (2019) Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation. *Physiol Rev* 99(1):311. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00036.2017>
- Wang X, Ji X (2020) Sample size estimation in clinical research: from randomized controlled trials to observational studies. *Chest* 158(1):12–S20. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.03.010>
- Weaver CJ, Willis JH, Hodge HC, Rochester NY (1944) The effect on the blood pressure of normal persons and hypertensive patients of glycerol trinitrate, sodium nitrite, erythrol tetranitrate, and mannitol hexanitrat. *Am Heart J* 28(5):601–610. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(44\)90412-6](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(44)90412-6)
- Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okoric M, Aboud Z, Misra S, Rashid R, Miall P, Deanfield J, Benjamin N, MacAllister R, Hobbs AJ, Ahluwalia A (2008) Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension* 51(3):784–790. [https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.103523/SUPPL\\_FILE/SUP\\_ZHY103523-S1.PDF](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.103523/SUPPL_FILE/SUP_ZHY103523-S1.PDF)
- Weiss S, Ellis LB (1933) Influence of sodium nitrite on the cardiovascular system and on renal activity: In health, in arterial hypertension and in renal disease. *Arch Intern Med* 52(1):105–119. <https://doi.org/10.1001/archinte.1933.00160010112011>
- WHO (2023) Global report on hypertension: the race against a silent killer. Switzerland, World Health Organization, Geneva, pp 1–276
- Yang J, Zhang Z, Du X, Wang Y, Meng R, Ge K, Wu C, Liang X, Zhang H, Guo H (2024) The effect and mechanism of combined exposure of MC-LR and NaNO<sub>2</sub> on liver lipid metabolism. *Environ Res* 252(Pt 4):119113. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2024.119113>
- Yingchoncharoen T, Rakyhao T, Chuncharunee S, Sritara P, Pienvichit P, Paiboonsukwong K, Sathavorasmith P, Sirirat K, Sriwantana T, Srihirun S, Sibmooh N (2018) Inhaled nebulized sodium nitrite decreases pulmonary artery pressure in  $\beta$ -thalassemia patients with pulmonary hypertension. *Nitric Oxide-Biol Chem* 76:174–178. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.010>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese adotou uma abordagem translacional para investigar o potencial terapêutico do NS no contexto da hipertensão arterial, com ênfase em formas secundárias e graves da doença, como a HR e a HP. Os dados obtidos permitiram uma análise integrada dos efeitos moleculares e fisiológicos do NS em modelo animal, bem como uma avaliação abrangente das evidências clínicas disponíveis até o momento.

O estudo experimental demonstrou que o NS exerce efeitos benéficos dose-dependentes em ratos com HR, com a dose mais alta promovendo redução da pressão arterial e melhora da função e morfologia renal. Já a revisão de escopo indicou que, embora existam dados clínicos promissores sobre o uso do NS em hipertensão sistêmica e pulmonar, a falta de estudos robustos ainda limita sua aplicação, sendo necessário aprofundar a investigação sobre sua eficácia e segurança a longo prazo.

Em conjunto, os achados desta tese reforçam o potencial do NS como uma estratégia terapêutica alternativa para condições hipertensivas associadas à disfunção endotelial e à baixa biodisponibilidade de NO. No entanto, também evidenciam a necessidade de mais estudos, tanto experimentais quanto clínicos, que explorem diferentes regimes de dose, vias de administração e populações-alvo, com atenção especial aos desfechos de segurança e à eficácia em longo prazo.

Assim, esta tese contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso do NS em doenças hipertensivas, ao mesmo tempo em que destaca as lacunas que ainda precisam ser preenchidas para sua eventual incorporação segura e eficaz na prática clínica.

## REFERENCIAS

AEBI, Hugo. [13] Catalase in Vitro. **Methods in Enzymology**, [S. l.], v. 105, n. C, p. 121–126, 1984. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3. Acesso em: 25 maio. 2021.

AGUILAR DIAZ DE LEON, Jesús; BORGES, Chad R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. **Journal of visualized experiments : JoVE**, Cambridge, v. 2020, n. 159, 2020. DOI: 10.3791/61122. Disponível em: /pmc/articles/PMC9617585/. Acesso em: 16 jul. 2023.

ALAM, Md Ashraful; HASAN CHOWDHURY, Mohammed Riaz; JAIN, Preeti; SAGOR, Md Abu Taher; REZA, Hasan Mahmud. DPP-4 inhibitor sitagliptin prevents inflammation and oxidative stress of heart and kidney in two kidney and one clip (2K1C) rats. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, Brazil, v. 7, n. 1, p. 107, 2015. DOI: 10.1186/S13098-015-0095-3. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4658771/>. Acesso em: 29 abr. 2025.

ALAWI, Laale F.; DHAKAL, Sanjeev; EMBERESH, Sana E.; SAWANT, Harshal; HOSAWI, Anhar; THANEKAR, Unmesha; GROBE, Nadja; ELASED, Khalid M. Effects of Angiotensin II Type 1A Receptor on ACE2, Neprilysin and KIM-1 in Two Kidney One Clip (2K1C) Model of Renovascular Hypertension. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 11, p. 602985, 2021. a. DOI: 10.3389/FPHAR.2020.602985/BIBTEX. Disponível em: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org). Acesso em: 21 jan. 2025.

ALAWI, Laale F.; DHAKAL, Sanjeev; EMBERESH, Sana E.; SAWANT, Harshal; HOSAWI, Anhar; THANEKAR, Unmesha; GROBE, Nadja; ELASED, Khalid M. Effects of Angiotensin II Type 1A Receptor on ACE2, Neprilysin and KIM-1 in Two Kidney One Clip (2K1C) Model of Renovascular Hypertension. **Frontiers in pharmacology**, Lausanne, v. 11, 2021. b.

ALQARNI, Abdullah A. et al. Role of prostanoids, nitric oxide and endothelin pathways in pulmonary hypertension due to COPD. **Frontiers in Medicine**, Switzerland, v. 10, 2023. DOI: 10.3389/FMED.2023.1275684. Disponível em: /pmc/articles/PMC10597708/. Acesso em: 29 set. 2024.

AMARAL, Jefferson H.; RIZZI, Elen S.; ALVES-LOPES, Rhéure; PINHEIRO, Lucas C.; TOSTES, Rita C.; TANUS-SANTOS, Jose E. Antioxidant and antihypertensive responses to oral nitrite involves activation of the Nrf2 pathway. **Free Radical Biology and Medicine**, Netherlands, v. 141, p. 261–268, 2019.

ANEKAR, Aabha A.; HENDRIX, Joseph Maxwell; CASCELLA, Marco. WHO Analgesic Ladder. **Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh**, Scotland, v. 38, n. 3, p. 284, 2023. DOI: 10.1007/978-3-642-28753-4\_102537. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554435/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

BENZA, Raymond L.; SIMONNEAU, Gérald; GRÜNIG, Ekkehard; SANDNER, Peter; STASCH, Johannes Peter. The nitric oxide–soluble guanylate cyclase–cGMP pathway in pulmonary hypertension: from PDE5 to soluble guanylate cyclase. **European Respiratory Review**, Switzerland, v. 33, n. 171, 2024.

BOSHRA, Vivian; ABBAS, Amr M. Effects of peripherally and centrally applied ghrelin on the oxidative stress induced by renin angiotensin system in a rat model of renovascular hypertension. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, Berlin, v. 28, n. 4, p. 347–354, 2017. Acesso em: 29 jan. 2025.

BOUCLY, Athénaïs; GERGES, Christian; SAVALE, Laurent; JAÏS, Xavier; JEVNIKAR, Mitja; MONTANI, David; SITBON, Olivier; HUMBERT, Marc. Pulmonary arterial hypertension. **La Presse Médicale**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 104168, 2023.

CAMPOS, Ruy R.; OLIVEIRA-SALES, Elizabeth B.; NISHI, Érika E.; BOIM, Mirian A.; DOLNIKOFF, Miriam S.; BERGAMASCHI, Cássia T. The role of oxidative stress in renovascular hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, Australia, v. 38, n. 2, p. 144–152, 2011.

CARDA, Ana P. P.; MARCHI, Katia C.; RIZZI, Elen; MECAWI, André S.; ANTUNES-RODRIGUES, José; PADOVAN, Claudia M.; TIRAPELLI, Carlos R. Acute restraint stress induces endothelial dysfunction: role of vasoconstrictor prostanoids and oxidative stress. **Stress**, United Kingdom, v. 18, n. 2, p. 233–243, 2015.

CASTRO, Michele M.; RIZZI, Elen; FIGUEIREDO-LOPES, Livia; FERNANDES, Karla; BENDHACK, Lusiane M.; PITOL, Dimitrius Leonardo; GERLACH, Raquel F.; TANUS-SANTOS, Jose E. Metalloproteinase inhibition ameliorates hypertension and prevents vascular dysfunction and remodeling in renovascular hypertensive rats. **Atherosclerosis**, Ireland, v. 198, n. 2, p. 320–331, 2008.

CERON, CS; CASTRO, MM; RIZZI, E.; MONTENEGRO, MF; FONTANA, V.; SALGADO, MCO; GERLACH, RF; TANUS-SANTOS, JE. Spironolactone and hydrochlorothiazide exert antioxidant effects and reduce vascular matrix metalloproteinase-2 activity and expression in a model of renovascular hypertension. **British Journal of Pharmacology**, United Kingdom, v. 160, n. 1, p. 77, 2010.

CHAIHONGSA, Nisita; MANEESAI, Putcharawipa; SANGARTIT, Weerapon; RATTANAKANOKCHAI, Siwayu; POTUE, Prapassorn; KHAMSEEKAEW, Juthamas; BUNBUPHA, Sarawoot; PAKDEECHOTE, Pongrat. Cardiorenal dysfunction and hypertrophy induced by renal artery occlusion are normalized by galangin treatment in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, France, v. 152, p. 113231, 2022.

CHENG, Jingfei et al. Temporal analysis of signaling pathways activated in a murine model of two-kidney, one-clip hypertension. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, Bethesda, v. 297, n. 4, p. 1055–1068, 2009.

CHENG, Zhengyuan; LIMBU, Manoj Hang; WANG, Zhi; LIU, Jing; LIU, Lei; ZHANG, Xiaoyi; CHEN, Pingsheng; LIU, Bicheng. MMP-2 and 9 in Chronic Kidney Disease. **International Journal of Molecular Sciences** **2017, Vol. 18, Page 776**, Switzerland, v. 18, n. 4, p. 776, 2017. DOI: 10.3390/IJMS18040776.

CHENG, Zhengyuan; LIU, Lei; WANG, Zhi; CAI, Yingying; XU, Qing; CHEN, Pingsheng. Hypoxia Activates Src and Promotes Endocytosis Which Decreases MMP-2 Activity and Aggravates Renal Interstitial Fibrosis. **International Journal of Molecular Sciences** **2018, Vol. 19, Page 581**, Switzerland, v. 19, n. 2, p. 581, 2018.

CORTÉS-PUCH, I.; SUN, Junfeng; SCHECHTER, Alan N.; SOLOMON, Steven B.; PARK, Ji Won; FENG, Jing; GILLIARD, Cameron; NATANSON, Charles; PIKNOVA, Barbora. Inhaled nebulized nitrite and nitrate therapy in a canine model of hypoxia-induced pulmonary hypertension. **Nitric Oxide**, Düsseldorf, v. 91, p. 1–14, 2019.

COSBY, Kenyatta et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. **Nature Medicine** **2003 9:12**, Nova York, v. 9, n. 12, p. 1498–1505, 2003.

DA COSTA, Cristiane Aguiar et al. Effect of Euterpe oleracea Mart. Seeds Extract on Chronic Ischemic Renal Injury in Renovascular Hypertensive Rats. **Journal of Medicinal Food**, United States, v. 20, n. 10, p. 1002–1010, 2017.

DALMAN, Jessie; COLEMAN, Dawn M. Nonatherosclerotic Renovascular Hypertension. **Surgical Clinics of North America**, United States, v. 103, n. 4, p. 733–743, 2023. DOI: 10.1016/J.SUC.2023.05.007. Acesso em: 28 jan. 2025.

DE BHAILIS, Áine M.; KALRA, Philip A. Hypertension and the kidneys. **British Journal of Hospital Medicine**, London, v. 83, n. 5, 2022. DOI: 10.12968/HMED.2021.0440/ASSET/IMAGES/LARGE/HMED.2021.0440\_T02.JPEG. Disponível em: /doi/pdf/10.12968/hmed.2021.0440?download=true. Acesso em: 30 abr. 2025.

DE MORAES, Natália Valadares; DE MELLO, Mauricio Homem; DE SOUZA, Ana Maria; SAMPAIO, Suely Vilela; QUEIROZ, Regina Helena Costa. Potencialização do efeito metemoglobinizante da dapsona em ratos pela N-acetilcisteína. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Brazil, v. 44, n. 1, p. 97–104, 2008.

DEJAM, André et al. Nitrite infusion in humans and nonhuman primates: Endocrine effects, pharmacokinetics, and tolerance formation. **Circulation**, Dallas, v. 116, n. 16, p. 1821–1831, 2007.

DO VALLE, Gabriel Tavares; RICCI, Sthefany Teodoro; SILVA, Alessandra Oliveira; TIRAPELLI, Carlos Renato; CERON, Carla Speroni. Ethanol consumption increases renal dysfunction and mortality in a mice model of sub-lethal sepsis. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 99, n. 7, p. 699–707, 2021. DOI:

10.1139/CJPP-2020-0564/ASSET/IMAGES/LARGE/CJPP-2020-0564CON1.JPEG.

Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/cjpp-2020-0564>. Acesso em: 5 fev. 2025.

DONNINI, Sandra et al. Peroxynitrite inactivates human-tissue inhibitor of metalloproteinase-4. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 582, n. 7, p. 1135–1140, 2008.

DURIC, Ljiljana Fodor; DURIC, Ljiljana Fodor. It's Time for New Insights into Renovascular Hypertension at the Molecular Level. **Journal of Biosciences and Medicines**, California, v. 12, n. 2, p. 180–201, 2024.

EL-NABARAWY, Nagla A.; GOUDA, Ahmed S.; KHATTAB, Mohamed A.; RASHED, Laila A. Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. **Environmental Science and Pollution Research**, Germany, v. 27, n. 12, p. 14019–14032, 2020. a.

EL-NABARAWY, Nagla A.; GOUDA, Ahmed S.; KHATTAB, Mohamed A.; RASHED, Laila A. Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. **Environmental Science and Pollution Research**, Germany, v. 27, n. 12, p. 14019–14032, 2020. b.

EL-SHERBINI, Amira M.; MAYSARAH, Nadia M.; EL-SHERBINY, Mohamed; AL-GAYYAR, Mohammed M. H.; ELSHERBINY, Nehal M. Glycyrrhizic acid ameliorates sodium nitrite-induced lung and salivary gland toxicity: Impact on oxidative stress, inflammation and fibrosis. **Human and Experimental Toxicology**, United Kingdom, v. 40, n. 4, p. 707–721, 2021.

FREARS, Emma R.; ZHANG, Zhi; BLAKE, David R.; O'CONNELL, James P.; WINYARD, Paul G. Inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by peroxynitrite. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 381, n. 1–2, p. 21–24, 1996. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00065-8.

FUJII, Toshihide; TAKAOKA, Masanori; OHKITA, Mamoru; MATSUMURA, Yasuo. Tempol protects against ischemic acute renal failure by inhibiting renal noradrenaline overflow and endothelin-1 overproduction. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Japan, v. 28, n. 4, p. 641–645, 2005. DOI: 10.1248/bpb.28.641.

GENOVESI, Simonetta; GIUSSANI, Marco; ORLANDO, Antonina; LIETI, Giulia; VIAZZI, Francesca; PARATI, Gianfranco. Relationship between endothelin and nitric oxide pathways in the onset and maintenance of hypertension in children and adolescents. **Pediatric Nephrology** (Berlin, Germany), v. 37, n. 3, p. 537, 2022. DOI: 10.1007/S00467-021-05144-2. Disponível em: </pmc/articles/PMC8921137/>. Acesso em: 10 dez. 2024.

GIRIBABU, Nelli; KARIM, Kamarulzaman; KILARI, Eswar Kumar; SALLEH, Naguib. Phyllanthus niruri leaves aqueous extract improves kidney functions, ameliorates kidney oxidative stress, inflammation, fibrosis and apoptosis and enhances kidney cell

proliferation in adult male rats with diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, Ireland, v. 205, p. 123–137, 2017.

GLADWIN, Mark T. et al. The emerging biology of the nitrite anion. **Nature Chemical Biology** 2005 1:6, London, v. 1, n. 6, p. 308–314, 2005. DOI: 10.1038/nchembio1105-308. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nchembio1105-308>. Acesso em: 22 ago. 2024.

GODBER, Ben L. J.; DOEL, Justin J.; SAPKOTA, Gopal P.; BLAKE, David R.; STEVENS, Cliff R.; EISENTHAL, Robert; HARRISON, Roger. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. **Journal of Biological Chemistry**, United States, v. 275, n. 11, p. 7757–7763, 2000.

GRIENDLING, Kathy K.; CAMARGO, Livia L.; RIOS, Francisco J.; ALVES-LOPES, Rhéure; MONTEZANO, Augusto C.; TOUYZ, Rhian M. OXIDATIVE STRESS AND HYPERTENSION. **Circulation research**, Baltimore, v. 128, n. 7, p. 993, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8293920/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

GUIMARAES, Danielle A.; DOS PASSOS, Madla A.; RIZZI, Elen; PINHEIRO, Lucas C.; AMARAL, Jefferson H.; GERLACH, Raquel F.; CASTRO, Michele M.; TANUS-SANTOS, Jose E. Nitrite exerts antioxidant effects, inhibits the mTOR pathway and reverses hypertension-induced cardiac hypertrophy. **Free Radical Biology and Medicine**, Netherlands, v. 120, p. 25–32, 2018.

GUNST, Jan; KASHANI, Kianoush B.; HERMANS, Greet. The urea-creatinine ratio as a novel biomarker of critical illness-associated catabolism. **Intensive Care Medicine**, Germany, v. 45, n. 12, p. 1813–1815, 2019.

HEGESH, E.; GRUENER, N.; COHEN, S.; BOCHKOVSKY, R.; SHUVAL, H. I. A sensitive micromethod for the determination of methemoglobin in blood. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 679–682, 1970.

HERRMANN, Sandra M.; TEXTOR, Stephen C. **Renovascular Hypertension. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**. W.B. Saunders, 2019. DOI: 10.1016/j.ecl.2019.08.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2019.08.007>. Acesso em: 7 abr. 2024.

HIGASHI, Yukihiro; MARUHASHI, Tatsuya; NOMA, Kensuke; KIHARA, Yasuki. Oxidative stress and endothelial dysfunction: Clinical evidence and therapeutic implications. **Trends in Cardiovascular Medicine**, California, v. 24, n. 4, p. 165–169, 2014. DOI: 10.1016/J.TCM.2013.12.001. Acesso em: 21 jan. 2025.

HSIEH, Anne; FERIC, Nicole T.; RADISIC, Milica. Combined hypoxia and sodium nitrite pretreatment for cardiomyocyte protection in vitro. **Biotechnology Progress**, United States, v. 31, n. 2, p. 482–492, 2015. DOI: 10.1002/BTPR.2039. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/btpr.2039>.

HUANG, Ling Ling; PAN, Chen; YU, Ting Ting; GUO, Kun; WANG, Xing Hui; ZHANG, Jun Yan; WANG, Hong Zhi; GAO, Shan. Beneficial Therapeutic Effect of Chinese Herbal Xinji'erkang Formula on Hypertension-Induced Renal Injury in the 2-Kidney-1-Clip Hypertensive Rats. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, Nigeria, v. 11, n. 5, p. 16, 2014. DOI: 10.4314/AJTCAM.V11I5.3. Disponível em: /pmc/articles/PMC4202512/. Acesso em: 17 jul. 2022.

HUGHAN, Kara S.; LEVINE, Andrea; HELBLING, Nicole; ANTHONY, Steven; DELANY, James P.; STEFANOVIC-RACIC, Maja; GOODPASTER, Bret H.; GLADWIN, Mark T. Effects of Oral Sodium Nitrite on Blood Pressure, Insulin Sensitivity, and Intima-Media Arterial Thickening in Adults with Hypertension and Metabolic Syndrome. **Hypertension**, United States, v. 76, n. 3, p. 866–874, 2020. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14930.

HUMBERT, Marc et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. **European Respiratory Journal**, Lausanne, v. 61, n. 1, 2023. DOI: 10.1183/13993003.00879-2022.

HUNTER, Christian J. et al. Inhaled nebulized nitrite is a hypoxia-sensitive NO-dependent selective pulmonary vasodilator. **Nature Medicine**, United States, v. 10, n. 10, p. 1122–1127, 2004.

IMAIZUMI, Kazuhiko; TYUMA, Itiro; IMAI, Kiyohiro; KOSAKA, Hiroaki; UEDA, Yoshihiro. In vivo studies on methemoglobin formation by sodium nitrite. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, Germany, v. 45, n. 2, p. 97–104, 1980. DOI: 10.1007/BF01274129/METRICS. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01274129>. Acesso em: 14 jan. 2025.

JANKOV, Robert P.; DANIEL, Kathrine L.; INY, Shira; KANTORES, Crystal; IVANOVSKA, Julijana; FADEL, Nadya Ben; JAIN, Amish. Sodium nitrite augments lung S-nitrosylation and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in juvenile rats. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, United States, v. 315, n. 5, p. L742–L751, 2018. DOI: 10.1152/AJPLUNG.00184.2018/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH50101874980005.JPEG. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajplung.00184.2018>. Acesso em: 29 jan. 2025.

JOHNSON, Shelsey; SOMMER, Natascha; COX-FLAHERTY, Katherine; WEISSMANN, Norbert; VENTETUOLO, Corey E.; MARON, Bradley A. Pulmonary Hypertension: A Contemporary Review. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 208, n. 5, p. 528–548, 2023.

KIOWSKI, Wolfgang; LUSCHER, Thomas F.; LINDER, Lilly; BUHIER, Fritz R. The Causal Relationship between Endothelin-1 and Hypertension: Focusing on Endothelial Dysfunction, Arterial Stiffness, Vascular Remodeling, and Blood Pressure Regulation.

**Life** **2021**, Switzerland, v. 11, n. 9, p. 986, 2021. DOI: 10.3390/LIFE11090986. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-1729/11/9/986/htm>. Acesso em: 10 set. 2024.

KOBAYASHI, Shuzo; ISHIDA, Aki; MORIYA, Hidekazu; MORI, Nobuyuki; FUKUDA, Taneo; TAKAMURA, Tadanobu. Angiotensin II receptor blockade limits kidney injury in two-kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats with special reference to phenotypic changes. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, United States, v. 133, n. 2, p. 134–143, 1999.

KONUKOGLU, Dildar; UZUN, Hafize. Endothelial Dysfunction and Hypertension. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, United States, v. 956, p. 511–540, 2016.

KUCZERISZKA, Marta; WĄSOWICZ, Krzysztof. Animal models of hypertension: The status of nitric oxide and oxidative stress and the role of the renal medulla. **Nitric Oxide**, Netherlands, v. 125–126, p. 40–46, 2022. DOI: 10.1016/J.NIOX.2022.06.003. Acesso em: 10 set. 2024.

LE, Xoan Thi et al. Anti-hypertensive effects of *Callisia fragrans* extract on Reno-vascular hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, United States, v. 44, n. 5, p. 411–418, 2022.

LING, Wei Chih; MUSTAFA, Mohd Rais; VANHOUTTE, Paul M.; MURUGAN, Dharmani Devi. Chronic administration of sodium nitrite prevents hypertension and protects arterial endothelial function by reducing oxidative stress in angiotensin II-infused mice. **Vascular Pharmacology**, Netherlands, v. 102, p. 11–20, 2018. DOI: 10.1016/J.VPH.2017.05.003. Acesso em: 13 jan. 2025.

LIU, Ruisheng; STARUSCHENKO, Alexander. Matrix Metalloproteinase 2 is crucial for hypertension- and hyperglycemia-induced kidney injury independent of blood pressure. **Journal of cardiovascular pharmacology**, Naperville, v. 82, n. 6, p. 438, 2023. DOI: 10.1097/FJC.0000000000001488.

LUNDBERG, J. O. N.; WEITZBERG, E.; LUNDBERG, J. M.; ALVING, K. Intra-gastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. **Gut**, United Kingdom, v. 35, n. 11, p. 1543, 1994. DOI: 10.1136/GUT.35.11.1543. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1375608/>. Acesso em: 29 jan. 2025.

LUNDBERG, Jon O.; WEITZBERG, Eddie; GLADWIN, Mark T. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**, United Kingdom, 2008 7:2, v. 7, n. 2, p. 156–167, fev. 2008.

MAJID, Dewan S. A.; NAVAR, L. Gabriel. Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. **American Journal of Hypertension**, United Kingdom, v. 14, n. S3, p. 74S–82S, 2001.

MANNEMUDDHU, Sai Sudha; OJEDA, Jason C.; YADAV, Anju. Renovascular Hypertension. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, Netherlands, v. 47, n. 4, p. 631–644, 2020. DOI: 10.1016/J.POP.2020.08.009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0095454320300634?via%3Dihub>. Acesso em: 29 abr. 2025.

MARON, Bradley A. Revised Definition of Pulmonary Hypertension and Approach to Management: A Clinical Primer. **Journal of the American Heart Association**, Dallas, v. 12, n. 8, p. 29024, 2023.

MCEVOY, John William et al. 2024 ESC Guidelines for the management of elevated blood pressure and hypertension: Developed by the task force on the management of elevated blood pressure and hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and endorsed by the European Society of Endocrinology (ESE) and the European Stroke Organisation (ESO). **European Heart Journal**, United Kingdom, v. 45, n. 38, p. 3912–4018, 2024. DOI: 10.1093/EURHEARTJ/EHAE178. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehae178>. Acesso em: 29 abr. 2025.

MIGUEL-DOS-SANTOS, Rodrigo; DOS SANTOS, Jucilene Freitas; MACEDO, Fabricio Nunes; MARÇAL, Anderson Carlos; SANTANA-FILHO, Valter J.; WICHI, Rogerio Brandão; LAUTON-SANTOS, Sandra. Treino de Força Reduz Stress Oxidativo Cardíaco e Renal em Ratos com Hipertensão Renovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Brazil, v. 116, n. 1, p. 4, 2021.

MILLAR, Timothy M.; STEVENS, Cliff R.; BENJAMIN, Nigel; EISENTHAL, Robert; HARRISON, Roger; BLAKE, David R. Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 427, n. 2, p. 225–228, 1998. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)00430-X. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/S0014-5793%2898%2900430-X>. Acesso em: 29 jan. 2025.

MILLER, Lutfiya; HÉBERT, Charles D.; GRIMES, Sheila D.; TOOMEY, James S.; OH, Joo Yeun; ROSE, Jason J.; PATEL, Rakesh P. Safety and toxicology assessment of sodium nitrite administered by intramuscular injection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, United States, v. 429, p. 115702, 2021. DOI: 10.1016/J.TAAP.2021.115702. Acesso em: 14 jan. 2025.

MOCUMBI, Ana; HUMBERT, Marc; SAXENA, Anita; JING, Zhi Cheng; SLIWA, Karen; THIENEMANN, Friedrich; ARCHER, Stephen L.; STEWART, Simon. Pulmonary hypertension. **Nature Reviews Disease Primers 2024 10:1**, London, v. 10, n. 1, p. 1–20, 2024. DOI: 10.1038/s41572-023-00486-7. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41572-023-00486-7>. Acesso em: 21 ago. 2024.

MONTENEGRO, Marcelo F.; AMARAL, Jefferson H.; PINHEIRO, Lucas C.; SAKAMOTO, Eliana K.; FERREIRA, Grazielle C.; REIS, Rosana Inacio; MARÇAL, Diogo M. O.; PEREIRA, Romaiiana P.; TANUS-SANTOS, Jose E. Sodium nitrite downregulates vascular NADPH

oxidase and exerts antihypertensive effects in hypertension. **Free Radical Biology and Medicine**, Netherlands, v. 51, n. 1, p. 144–152, 2011. a. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2011.04.005. Acesso em: 20 jan. 2025.

MONTENEGRO, Marcelo F.; AMARAL, Jefferson H.; PINHEIRO, Lucas C.; SAKAMOTO, Eliana K.; FERREIRA, Grazielle C.; REIS, Rosana Inacio; MARÇAL, Diogo M. O.; PEREIRA, Romaiana P.; TANUS-SANTOS, Jose E. Sodium nitrite downregulates vascular NADPH oxidase and exerts antihypertensive effects in hypertension. **Free Radical Biology and Medicine**, Netherlands v. 51, n. 1, p. 144–152, 2011. b. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2011.04.005. Acesso em: 12 jan. 2025.

MOUNT, P. F.; POWER, D. A. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. **Acta Physiologica**, Denmark, v. 187, n. 4, p. 433–446, 2006. DOI: 10.1111/J.1748-1716.2006.01582.X. Disponível em: /doi/pdf/10.1111/j.1748-1716.2006.01582.x. Acesso em: 15 jun. 2025.

NAIR, Raunak; VAQAR, Sarosh. Renovascular Hypertension. **StatPearls**, United States, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551587/>. Acesso em: 1 ago. 2021.

NAIR, Raunak; VAQAR, Sarosh. Renovascular Hypertension. **StatPearls**, United States, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551587/>. Acesso em: 4 dez. 2022.

NETO-NEVES, Evandro M.; PINHEIRO, Lucas C.; NOGUEIRA, Renato C.; PORTELLA, Rafael L.; BATISTA, Rose I.; TANUS-SANTOS, Jose E. Sodium nitrite improves hypertension-induced myocardial dysfunction by mechanisms involving cardiac S-nitrosylation. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, Xangai, v. 134, p. 40–50, 2019. DOI: 10.1016/J.YJMCC.2019.06.012. Acesso em: 15 jul. 2022.

NISHI, Erika Emy; OLIVEIRA-SALES, Elizabeth Barbosa; BERGAMASCHI, Cássia T.; OLIVEIRA, Thais Galvo César; BOIM, Mirian A.; CAMPOS, Ruy R. Chronic antioxidant treatment improves arterial renovascular hypertension and oxidative stress markers in the kidney in wistar rats. **American Journal of Hypertension**, United Kingdom, v. 23, n. 5, 2010.

OPPÉ, T. E. Methaemoglobinaemia due to sodium nitrite. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 6663, p. 1051, 1951. DOI: 10.1016/S0140-6736(51)92563-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14825901/>. Acesso em: 30 jan. 2025.

OYANAGUI, Yoshihiko. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. **Analytical Biochemistry**, San Diego, California, v. 142, n. 2, p. 290–296, 1984. DOI: 10.1016/0003-2697(84)90467-6. Acesso em: 6 jan. 2025.

PARRISH, Alan R. Matrix Metalloproteinases in Kidney Disease: Role in Pathogenesis and Potential as a Therapeutic Target. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, Amsterdam, v. 148, p. 31–65, 1 jan. 2017.

PEREIRA, Bruna Pinheiro; DO VALE, Gabriel Tavares; CERON, Carla Speroni. The role of nitric oxide in renovascular hypertension: from the pathophysiology to the treatment. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, Hanover, Germany, v. 395, n. 2, p. 121–131, 2022. DOI: 10.1007/S00210-021-02186-Z. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34994823/>. Acesso em: 14 fev. 2024.

PERI, Laura; PIETRAFORTE, Donatella; SCORZA, Giuseppe; NAPOLITANO, Aurora; FOGLIANO, Vincenzo; MINETTI, Maurizio. Apples increase nitric oxide production by human saliva at the acidic pH of the stomach: A new biological function for polyphenols with a catechol group? **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 39, n. 5, p. 668–681, 2005. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2005.04.021. Acesso em: 29 jan. 2025.

PINHEIRO, Lucas C.; AMARAL, Jefferson H.; FERREIRA, Grazielle C.; PORTELLA, Rafael L.; CERON, Carla S.; MONTENEGRO, Marcelo F.; TOLEDO, Jose Carlos; TANUS-SANTOS, Jose E. Gastric S-nitrosothiol formation drives the antihypertensive effects of oral sodium nitrite and nitrate in a rat model of renovascular hypertension. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 87, p. 252–262, 2015. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2015.06.038. Acesso em: 30 jan. 2025.

PINHEIRO, Lucas C.; FERREIRA, Grazielle C.; AMARAL, Jefferson H.; PORTELLA, Rafael L.; TELLA, Sandra de O. C.; PASSOS, Madla A.; TANUS-SANTOS, Jose E. Oral nitrite circumvents antiseptic mouthwash-induced disruption of enterosalivary circuit of nitrate and promotes nitrosation and blood pressure lowering effect. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 101, p. 226–235, 2016. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2016.10.013. Acesso em: 30 jan. 2025.

PLUTA, Ryszard M.; DEJAM, Andre; GRIMES, George; GLADWIN, Mark T.; OLDFIELD, Edward H. Nitrite Infusions to Prevent Delayed Cerebral Vasospasm in a Primate Model of Subarachnoid Hemorrhage. **JAMA**, Illinois, Chicago, v. 293, n. 12, p. 1477–1484, 2005.

POLIZIO, Ariel H.; BALESTRASSE, Karina B.; GORNALUSSE, German G.; GORZALCZANY, Susana B.; SANTA-CRUZ, Diego M.; YANNARELLI, Gustavo G.; PEÑA, Clara; TOMARO, María L. Losartan exerts renoprotection through NAD(P)H oxidase downregulation in a renovascular model of hypertension. **Regulatory Peptides**, [S. l.], v. 156, n. 1–3, p. 28–33, 2009. DOI: 10.1016/J.REGPEP.2009.05.005. Acesso em: 21 jan. 2025.

PRADO, Alejandro F. et al. Matrix metalloproteinase-2-induced epidermal growth factor receptor transactivation impairs redox balance in vascular smooth muscle cells and facilitates vascular contraction. **Redox Biology**, Netherlands, v. 18, p. 181–190, 2018. DOI: 10.1016/j.redox.2018.07.005. Acesso em: 12 abr. 2021.

RADI, Rafael. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, D.C., United States, v. 115, n. 23, p. 5839, 2018. DOI: 10.1073/PNAS.1804932115. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6003358/>. Acesso em: 24 dez. 2024.

RAJAGOPALAN, Sanjay et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: Contribution to alterations of vasomotor tone. **Journal of Clinical Investigation**, United States, v. 97, n. 8, p. 1916–1923, 15 abr. 1996.

RASSAF, Tienush; FLÖGEL, Ulrich; DREXHAGE, Christine; HENDGEN-COTTA, Ulrike; KELM, Malte; SCHRADER, Jürgen. Nitrite reductase function of deoxymyoglobin: Oxygen sensor and regulator of cardiac energetics and function. **Circulation Research**, United States, v. 100, n. 12, p. 1749–1754, 2007.

RIZZI, Elen; AMARAL, Jefferson H.; GUIMARÃES, Danielle A.; CONDE-TELLA, Sandra O.; PINHEIRO, Lucas C.; GERLACH, Raquel F.; CASTRO, Michele M.; TANUS-SANTOS, Jose E. Nitrite treatment downregulates vascular MMP-2 activity and inhibits vascular remodeling in hypertension independently of its antihypertensive effects. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 130, p. 234–243, 2019. a.

RIZZI, Elen; AMARAL, Jefferson H.; GUIMARÃES, Danielle A.; CONDE-TELLA, Sandra O.; PINHEIRO, Lucas C.; GERLACH, Raquel F.; CASTRO, Michele M.; TANUS-SANTOS, Jose E. Nitrite treatment downregulates vascular MMP-2 activity and inhibits vascular remodeling in hypertension independently of its antihypertensive effects. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 130, p. 234–243, 2019. b. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2018.11.002. Acesso em: 15 jul. 2022.

RONCO, Pierre; LELONGT, Brigitte; PIEDAGNEL, Rémi; CHATZIANTONIOU, Christos. Matrix Metalloproteinases in Kidney Disease Progression and Repair: A Case of Flipping the Coin. **Seminars in Nephrology**, United Kingdom, v. 27, n. 3, p. 352–362, 2007. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2007.02.006. Disponível em: <http://www.seminarsinnephrology.org/article/S027092950700037X/fulltext>. Acesso em: 2 fev. 2025.

ROUMELIOTIS, Stefanos; MALLAMACI, Francesca; ZOCCALI, Carmine. Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease, from Biology to Clinical Outcomes: A 2020 Update. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 8, p. 2359, 2020. DOI: 10.3390/jcm9082359. Disponível em: [www.mdpi.com/journal/jcm](http://www.mdpi.com/journal/jcm). Acesso em: 12 abr. 2021.

RUOPP, Nicole F.; COCKRILL, Barbara A. Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: A Review. **JAMA**, [S. l.], v. 327, n. 14, p. 1379–1391, 2022. DOI: 10.1001/JAMA.2022.4402. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2790933>. Acesso em: 30 abr. 2025.

S, Rajagopalan; S, Kurz; T, Münzel; M, Tarpey; BA, Freeman; KK, Griendling; DG, Harrison. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. **The Journal of clinical investigation**, [S. l.], v. 97, n. 8, p. 1916–1923, 1996. DOI: 10.1172/JCI118623. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8621776/>. Acesso em: 10 ago. 2021.

SAMADIAN, Fariba; DALILI, Nooshin; JAMALIAN, Ali. New Insights Into Pathophysiology, Diagnosis , and Treatment of Renovascular Hypertension. [S. l.], v. 11, n. 2, p. 79–89, 2017.

SAWANT, Sameer Hanmantrao; BODHANKAR, Subhash Laxmanrao. Flax lignan concentrate attenuate hypertension and abnormal left ventricular contractility via modulation of endogenous biomarkers in two-kidney-one-clip (2K1C) hypertensive rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 2016 26:5, Brazil, v. 26, n. 5, p. 601–610, 2016. DOI: 10.1016/J.BJP.2016.05.005. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1016/j.bjp.2016.05.005>. Acesso em: 15 jan. 2025.

SCHIFFER, Tomas A.; LUNDBERG, Jon O.; WEITZBERG, Eddie; CARLSTRÖM, Mattias. Modulation of mitochondria and NADPH oxidase function by the nitrate-nitrite-NO pathway in metabolic disease with focus on type 2 diabetes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v. 1866, n. 8, p. 165811, 2020. DOI: 10.1016/J.BBADIS.2020.165811. Acesso em: 12 jan. 2025.

SELIM, Saima et al. Flacourtia indica fruit extract modulated antioxidant gene expression, prevented oxidative stress and ameliorated kidney dysfunction in isoprenaline administered rats. **Biochemistry and Biophysics Reports**, Amsterdam, v. 26, p. 101012, 2021. DOI: 10.1016/J.BBREP.2021.101012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405580821001072?via%3Dihub>. Acesso em: 29 abr. 2025.

SHUVO, Asif Ul Haque et al. Evaluation of Xanthine Oxidase Inhibitors Febuxostat and Allopurinol on Kidney Dysfunction and Histological Damage in Two-Kidney, One-Clip (2K1C) Rats. **Scientifica**, United States, v. 2025, n. 1, p. 7932075, 2025. DOI: 10.1155/SCI5/7932075. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11779995/>. Acesso em: 29 abr. 2025.

SIMPLICIO, Janaina A.; RESSTEL, Leonardo B.; TIRAPELLI, Daniela P. C.; D'ORLÉANS-JUSTE, Pedro; TIRAPELLI, Carlos R. Contribution of oxidative stress and prostanoids in endothelial dysfunction induced by chronic fluoxetine treatment. **Vascular Pharmacology**, Amsterdam, v. 73, p. 124–137, 2015. DOI: 10.1016/J.VPH.2015.06.015. Acesso em: 6 jan. 2025.

TEJERO, Jesús; SHIVA, Sruti; GLADWIN, Mark T. SOURCES OF VASCULAR NITRIC OXIDE AND REACTIVE OXYGEN SPECIES AND THEIR REGULATION. **Physiological Reviews**, [S. l.],

v. 99, n. 1, p. 311, 2019. DOI: 10.1152/PHYSREV.00036.2017. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6442925/](#). Acesso em: 10 set. 2024.

TEPPER, Jeffrey; OCHOA, Ricardo; RIX, Peter; ELLIOTT, Gary; HOGLEN, Niel; POULIN, Dominic; PARSLEY, Ed; MASAMUNE, Hiroko. A 26-week toxicity assessment of AIR001 (sodium nitrite) by inhalation exposure in rats and by intravenous administration in dogs. **International Journal of Toxicology**, United States, v. 33, n. 3, p. 162–174, 2014.

TEXTOR, Stephen C. “Current Approaches to Renovascular Hypertension”. **The Medical clinics of North America**, United States, v. 93, n. 3, p. 717, 2009. DOI: 10.1016/J.MCNA.2009.02.012. Disponível em: [/pmc/articles/PMC2752469/](#).

THONGSEPEE, Nattaya; HIMAKHUN, Wanwisa; PARACHAT, Ratsikan; MARTVISET, Pongsakorn; CHANTREE, Pathanin; SORNCHUER, Phornphan; SANGPAIROJ, Kant; HIRANYACHATTADA, Siriphun. Garcinia dulcis Extract Alleviates Inflammation in Kidney and Liver of the 2-Kidney-1-Clip Hypertensive rat. **Journal of Evidence-based Integrative Medicine**, United Kingdom, v. 29, p. 2515690X241244845, 2024. DOI: 10.1177/2515690X241244845. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11016236/>. Acesso em: 29 abr. 2025.

THWAITES, C. A case of methaemoglobinaemia due to sodium nitrite poisoning. **The Medical journal of Australia**, Sidney, Australia, v. 43, n. 5, p. 185–186, 1956. DOI: 10.5694/J.1326-5377.1956.TB56565.X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13358359/>. Acesso em: 30 jan. 2025.

TOMBRIDGE, T. L. Effect of posture on hematology results. **American journal of clinical pathology**, Illinois, United States, v. 49, n. 4, p. 491–493, 1968. DOI: 10.1093/ajcp/49.4.491. Acesso em: 7 jan. 2025.

TOUSOULIS, Dimitris; KAMPOLI, Anna-Maria; PAPAGEORGIOU, Costas Tentolouris Nikolaos; STEFANADIS, Christodoulos. The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. **Current Vascular Pharmacology**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 4–18, 2011. DOI: 10.2174/157016112798829760. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/34239>. Acesso em: 30 jan. 2025.

VIAPPIANI, Serena; NICOLESCU, Adrian C.; HOLT, Andrew; SAWICKI, Grzegorz; CRAWFORD, Bryan D.; LEÓN, Hernando; VAN MULLIGEN, Tyler; SCHULZ, Richard. Activation and modulation of 72 kDa matrix metalloproteinase-2 by peroxynitrite and glutathione. **Biochemical Pharmacology**, Netherlands, v. 77, n. 5, p. 826–834, 2009. DOI: 10.1016/J.BCP.2008.11.004. Acesso em: 31 jan. 2025.

WANG, Jingwen; MA, Ruiyang; WANG, Ying; ZHANG, Shucong; WANG, Jiale; ZHENG, Jin; XUE, Wujun; DING, Xiaoming. rhMYDGF Alleviates I/R-induced Kidney Injury by Inhibiting Inflammation and Apoptosis via the Akt Pathway. **Transplantation**, United States, v. 107, n. 8, p. 1729, 2023. DOI: 10.1097/TP.0000000000004497. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10358439/>. Acesso em: 6 jan. 2025.

WEBB, Andrew J. et al. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. **Hypertension**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 784–790, 2008.

WELCH, William J.; MENDONCA, Margarida; ASLAM, Shakil; WILCOX, Christopher S. Roles of oxidative stress and AT1 receptors in renal hemodynamics and oxygenation in the postclipped 2K,1C kidney. *Em: HYPERTENSION, Dallas, Anais [...]*. : Lippincott Williams & Wilkins, 2003. p. 692–696. DOI: 10.1161/01.HYP.0000052945.84627.8F. Disponível em: <http://www.hypertensionaha.org>. Acesso em: 8 abr. 2025.

WHEATLEY, Keith et al. Revascularization versus Medical Therapy for Renal-Artery Stenosis. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, United States, v. 361, n. 20, p. 1953–1962, 2009. DOI: 10.1056/NEJMOA0905368/SUPPL\_FILE/NEJM\_ASTRAL\_1953SA1.PDF. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0905368>. Acesso em: 28 jan. 2025.

WOZNIAK, Justyna; FLOEGE, Jürgen; OSTENDORF, Tammo; LUDWIG, Andreas. Key metalloproteinase-mediated pathways in the kidney. **Nature Reviews Nephrology** 2021 **17:8**, London, United Kingdom, v. 17, n. 8, p. 513–527, 2021. DOI: 10.1038/s41581-021-00415-5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41581-021-00415-5>. Acesso em: 2 fev. 2025.

## ANEXO A

Documento de aprovação do protocolo experimental pela CEUA da Universidade de Ribeirão Preto, parecer 007/2020



**CEUA**  
Comissão de Ética  
no Uso de Animais

Ribeirão Preto, 08 de dezembro de 2020.

Prezado(a) Pesquisador (a) Elen Rizzi Sanchez

Vimos por meio desta, informar que a proposta intitulada “**MECANISMOS ENVOLVIDOS NOS EFEITOS ANTI-HIPERTRÓFICOS CARDÍACOS DE NITRITO INORGÂNICO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL**”, registrada sob o nº 007/2020 e sob a responsabilidade do (a) **pesquisador (a) Elen Rizzi Sanchez** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA UNAERP, em reunião realizada em 08/12/2020.

Solicitamos que nos encaminhe os relatórios parciais e finais, bem como envie-nos possíveis emendas, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo para que possamos fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. *Luciana Rezende Alves Oliveira*  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade de Ribeirão Preto

Finalidade: <input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa
Vigência da Autorização: a partir de 08/12/2020
Espécie / Linhagem / Raça: <input type="checkbox"/> Biotax/Wistar
Peso/Idade: 180-200g/35 dias
Nº de Animais: 307
Sexo: macho
Origem: Biotério Anistb

Av. Costabile Romano, 2201 – Bairro Ribeirânia – Ribeirão Preto-SP - CEP. 14096-900  
Fone: (16) 3603-6895 e-mail [petica@unaerp.br](mailto:petica@unaerp.br)

**ANEXO B**

Documento de aprovação do protocolo experimental pela CEUA da Universidade Federal de Alfenas, número 0015/2023.



## Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **Efeito do nitrito de sódio no dano renal da hipertensão renovascular 2-rins, 1-clipe (2R1C) em ratos**, registrada com o nº **0015/2023**, sob a responsabilidade de **Larissa Helena Lobo Torres Pacheco**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **01/08/2023 a 31/07/2026**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Rato / Wistar	73	73	0	Biotério da unifal-mg

Alfenas, 19 de Junho de 2023

**Prof(a). Dr(a). Lisandra Brandino de Oliveira**  
Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG

Para verificar autenticidade acesse: <http://sistemas.unifal-mg.edu.br/ep/pt/ceua/autenticidadecertificacao/> e digite a chave: 07289944d0896c45803d3723016799d