

**PRISCILA DA SILVA GUIMARÃES**

**EFEITO DA INFUSÃO INTRACEREBROVENTRICULAR CRÔNICA DE  
ANGIOTENSINA-(1-7) SOBRE O CONTROLE DA PRESSÃO  
ARTERIAL E REMODELAMENTO CARDÍACO EM RATOS COM  
HIPERTENSÃO DOCA-SAL**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Belo Horizonte  
2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**PRISCILA DA SILVA GUIMARÃES**

**EFEITO DA INFUSÃO INTRACEREBROVENTRICULAR CRÔNICA DE  
ANGIOTENSINA-(1-7) SOBRE O CONTROLE DA PRESSÃO  
ARTERIAL E REMODELAMENTO CARDÍACO EM RATOS COM  
HIPERTENSÃO DOCA-SAL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração: Fisiologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Maria José Campagnole-Santos

**Belo Horizonte  
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG  
2008**

Este trabalho foi realizado no  
Laboratório de Hipertensão do  
Departamento de Fisiologia e Biofísica do  
Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Minas Gerais  
com auxílio financeiro de CAPES, CNPq e FAPEMIG

***Aos meus amados pais, Jorge e Vera:***

***Jorge... Aquele que nunca deixou os obstáculos atravessarem nossa paz; de uma persistência, otimismo e alegria que jamais vi esmorecer. \_ Você nutri em mim, dia-a-dia, a vontade de sempre ir além, fazer e ser melhor que antes.***

***Vera... Aquela cujos olhares, gestos e palavras levam consigo luz. Mãe querida, grande amiga, conselheira e acolhedora, você é aquela que melhor interpreta cada olhar, silêncio e sorriso meu...***

***Jorge Luis das Dores Guimarães e Vera Lúcia da Silva Guimarães,***

***Meu porto-seguro, meu orgulho, meu presente divino. A vocês dedico mais este objetivo alcançado. Nossa distância se torna tão pequena perto de todo este amor e zelo. Muito obrigada.***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela sabedoria e serenidade.

À população brasileira, aos órgãos de fomento à pesquisa e a este Programa de Pós-Graduação por creditar a realização deste estudo.

À Prof<sup>a</sup> Maria José Campagnole-Santos, minha orientadora e exemplo de empenho e determinação, pela agradável orientação e amizade.

Aos professores Robson Santos, Marco Antônio Fontes, Andrea Haibara, Adelina Reis e Cândido Coimbra pela amizade e aprendizado no decorrer destes dois anos.

Aos professores Luís Carlos Reis e Magda Medeiros, da UFRuralRJ, pelo meu início na área da fisiologia.

À minha família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao Samuel, pela compreensão e doçura, pelo aprendizado, e por ter sido presente em todos os momentos que precisei.

À Erica Guilhen, Nívia Santiago, Daniel Carvalho, Gisele Vaz e Marcelo Coelho pela amizade e momentos de aprendizado.

Ao Zezé e a Marilene, pela agradável companhia, amizade e apoio técnico nas diferentes etapas deste estudo.

À Elisabeth Portugal e Sérgio Santos pela amizade e apoio na realização da técnica de biologia molecular.

Ao Carlos Henrique Xavier, pelas agradáveis conversas e apoio na realização dos experimentos com animais anestesiados.

À Talita e Ilma pelo cuidado exemplar com os animais do biotério e durante os períodos de experimentação.

A todos os meus amigos, colegas de laboratório e do departamento pelo agradável convívio.

## RESUMO

Estudos mostram que o eixo Ang-(1-7)/ receptor *Mas* é um importante contra-regulador de muitas das ações hipertensivas mediadas pela Ang II. A estimulação deste eixo contribui para a melhor atividade do controle barorreflexo da frequência cardíaca (FC) e possui uma correlação positiva direta com a redução na deposição de colágeno no coração. Embora ainda não completamente elucidados, uma parte importante dos efeitos da Ang-(1-7) parece ser mediada centralmente. No presente estudo, testamos a hipótese de que o aumento crônico dos níveis de Ang-(1-7) no SNC contribuiria para reduzir a pressão arterial e o remodelamento do ventrículo esquerdo (VE) em ratos com hipertensão arterial. Ratos Sprague-Dawley, entre a 12ª e a 14ª semana de idade, foram submetidos à uninefrectomia (UNX, grupo controle normotenso) ou UNX com implante de acetato de deoxicorticosterona (DOCA) e ingestão hídrica de solução de NaCl 0,9% e KCl 0,2% para indução da hipertensão arterial. Após 7 dias, os ratos submetidos à hipertensão arterial receberam infusão intracerebroventricular (ICV) de Ang-(1-7) (0,2 nmol/ 0,5 µl/ hora, grupo hipertenso tratado - DOCA-A7) ou Salina estéril 0,9% (0,5 µl/ hora, grupo hipertenso controle - DOCA) por 14 dias através de mini-bombas osmóticas. No 21º dia de hipertensão, o grupo DOCA apresentou aumento de 40% na pressão arterial média (PAM) basal, redução na sensibilidade do controle barorreflexo da FC e da atividade simpática renal, aumento do tônus simpático e redução do tônus parassimpático cardíaco e maior expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I (~13 vezes) no VE, quando comparado ao grupo UNX. Já o grupo DOCA-A7 apresentou atenuação em 50% do aumento da PAM, completa preservação do controle barorreflexo da FC e da atividade simpática renal, do tônus simpático e do tônus parassimpático cardíaco e ausência de aumento na expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I no VE. Não houve diferenças para os níveis de Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no VE, nem para a FC e atividade simpática do nervo renal (RSNA) basais. Estes resultados

mostram que a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) atenua o desenvolvimento da hipertensão arterial DOCA-sal, possivelmente por restabelecer o tônus autonômico para os tecidos periféricos e melhorar o controle barorreflexo. Além disso, a normalização do tônus autonômico cardíaco nos ratos submetidos a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) contribuiu para impedir o aumento na expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I no ventrículo esquerdo, sugerindo uma estreita relação de causa e consequência entre o SRA cerebral e as alterações cardíacas durante a hipertensão arterial.

## ABSTRACT

It has been shown that Ang-(1-7)/ Mas receptor axis counteracts most of Ang II hypertensive actions. Stimulation of this axis contributes to improve baroreflex control of heart rate and has a direct positive relationship with the attenuation of cardiac collagen deposition. Although not completely understood, the effects of Ang-(1-7) appears to be importantly mediated by the CNS. In the present study, we test the hypothesis that a chronic increase in central Ang-(1-7) levels would contribute to lowering blood pressure and to reduce left ventricle remodeling in hypertensive animals. Male Sprague-Dawley rats, 12–14 weeks of age, were submitted to uninephrectomy (UNX) or UNX with subcutaneous implant of deoxycorticosterone acetate (DOCA) and 0.9% NaCl and 0.2% KCl solutions to drink for hypertension induction. Seven days later, the hypertensive animals received intracerebroventricular (ICV) infusion of Ang-(1-7) (0.2 nmol/ 0.5  $\mu$ l/ hour, treated hypertensive group - DOCA-A7) or sterile 0.9% saline (0.5  $\mu$ l/ hour, control hypertensive group - DOCA) for 14 days by mini-osmotic pumps. On the 21st day of hypertension, DOCA group showed an increase of 40% in baseline mean arterial pressure (MAP), reduced baroreflex control of heart rate and renal sympathetic activity, increased cardiac sympathetic tonus and decreased cardiac parasympathetic tonus, and increased *mRNA* expression of left ventricle collagen type I (~13-fold). On the other hand, DOCA-A7 group showed an attenuation of 50% in MAP increase, a complete preservation of baroreflex control of heart rate and renal sympathetic activity, and normalized cardiac autonomic tonus, and there was no increase in *mRNA* expression of left ventricle collagen type I in this group. There were no differences in plasma or left ventricle Ang II and Ang-(1-7) levels, baseline heart rate, and baseline renal sympathetic nerve activity (RSNA). Our results showed that chronic ICV infusion of Ang-(1-7) attenuates DOCA-salt hypertension, probably by re-establishing cardiac autonomic tonus to peripheral tissues and improving of the baroreflex function.

Moreover, the normalization of the cardiac autonomic tonus after Ang-(1-7) ICV infusion contributed to prevent the increase in *mRNA* expression of left ventricle collagen type I, suggesting a close causal - consequence relationship between brain RAS and cardiac changes induced by arterial hypertension.

# LISTA DE FIGURAS

## Introdução

<b>Figura 1</b> - Esquema simplificado das vias proteolíticas de formação das angiotensinas biologicamente ativas e de metabólitos inativos .....	3
---	---

## Material e Métodos

<b>Figura 2</b> - Fotografia de cortes frontais do cérebro de um rato ilustrando o posicionamento da cânula no ventrículo lateral cerebral direito .....	26
--	----

## Resultados

<b>Figura 3</b> - Pressão arterial média basal de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	41
---	----

<b>Figura 4</b> - Frequência cardíaca basal de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	42
--	----

<b>Figura 5</b> - Índice de bradicardia barorreflexa de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	44
---	----

<b>Figura 6</b> – Correlação entre as alterações barorreflexas de FC, expressas em intervalo de pulso e as alterações de pressão arterial média produzidas pela injeção endovenosa de fenilefrina em ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	45
--	----

<b>Figura 7</b> - Tônus simpático cardíaco de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	47
---	----

<b>Figura 8</b> - Tônus parassimpático cardíaco de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	48
<b>Figura 9</b> - Frequência cardíaca intrínseca de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	48
<b>Figura 10</b> - Pressão arterial média basal de ratos anestesiados após 21 dias de indução hipertensão arterial DOCA-sal .....	50
<b>Figura 11</b> - Frequência cardíaca basal de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	50
<b>Figura 12</b> - Índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal ..	53
<b>Figura 13</b> - Correlação entre as alterações barorreflexas da atividade simpática renal e as alterações de pressão arterial média produzidas pela injeção endovenosa de fenilefrina em ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal.....	54
<b>Figura 14</b> - Razão entre o peso do ventrículo esquerdo e o comprimento da tibia de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	55
<b>Figura 15</b> – Imunorreatividade dos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	59
<b>Figura 16</b> - Expressão do <i>mRNA</i> para o colágeno tipo I no ventrículo esquerdo de ratos submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	61
<b>Figura 17</b> - Expressão do <i>mRNA</i> para o colágeno tipo III no ventrículo esquerdo de ratos submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	61

# LISTA DE TABELAS

## Material e Métodos

**Tabela 1** - Protocolo para coloração dos tecidos cerebrais com cresil violeta..... 25

**Tabela 2** - Especificação dos Primers utilizados neste estudo ..... 35

## Resultados

**Tabela 3** - Valores basais de PAM e de FC obtidos no 20º dia de hipertensão arterial DOCA-sal ..... 41

**Tabela 4** - Índice de Sensibilidade do Controle Barorreflexo da FC no 20º dia de hipertensão arterial DOCA-sal ..... 43

**Tabela 5** - Alterações na FC e valores de FC intrínseca após o teste da atividade autonômica cardíaca de ratos com 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal ..... 47

**Tabela 6** - Valores basais de PAM e de FC de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal ..... 49

**Tabela 7**- Atividade simpática basal do nervo renal e índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal ..... 51

**Tabela 8** – Peso do ventrículo direito e rim remanescente, normalizados pelo comprimento da tíbia e razão entre peso do lobo pulmonar esquerdo úmido/seco de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal ..... 56

<b>Tabela 9</b> – Imunorreatividade dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal .....	58
<b>Tabela 10</b> - Razão entre a imunorreatividade dos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	58
<b>Tabela 11</b> - Expressão de <i>mRNA</i> para os Colágenos tipo I e III no ventrículo esquerdo de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Percentual
°C	Graus Celsius
2K1C	Modelo de hipertensão 2 (dois) rins e 1 (um) clip
A779	Antagonista específico para o receptor Mas
AMP	Aminopectidase
Ang	Angiotensina
ANOVA	Análise de variância
AT <sub>1</sub>	Receptor para angiotensina II, subtipo 1
AT <sub>2</sub>	Receptor para angiotensina II, subtipo 2
AV3V	Região Antero-ventral do 3º ventrículo
AVP	Arginina-vasopressina
BHE	Barreira hemato-encefálica
BSA	Albumina sérica bovina
BVL	Bulbo ventrolateral
cDNA	Fita complementar de Ácido desoxirribonucléico
cm	Centímetro
CVLM	Bulbo ventrolateral caudal
CVOs	Órgãos circumventriculares
D-AMP	D-aminopectidase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DOCA	Acetato de deoxicorticosterona
	Grupo controle de ratos hipertensos
DOCA-A7	Grupo de ratos hipertensos tratados com Ang-(1-7)

ECA	Enzima conversora de angiotensina
EPM	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
GABA	Ácido $\gamma$ aminobutírico
h	Horas
i.p	Intraperitoneal
ICV	Intracerebroventricular
IML	Coluna intermédio-lateral
IP	Intervalo de pulso
IRAP	Aminopectidase regulada pela insulina
KCl	Cloreto de potássio
kg	Quilogramas
LPE	Lobo pulmonar esquerdo
Mas	Receptor da angiotensina-(1-7)
mg	Miligramas
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercúrio
<i>mRNA</i>	Ácido ribonucléico mensageiro
ms	Milisegundos
NA	Núcleo ambíguo
NaCl	Cloreto de sódio
NE	Norepinefrina
NEP	Endopeptidase neutra
NMDV	Núcleo motor dorsal do vago

nmol	Nanomol
NO	Óxido nítrico
nTS	Núcleo do trato solitário
OVL	Órgão vasculoso da lâmina terminal
P.A	Substância pura
P.M	Peso molecular
PAM	Pressão arterial média
PCP	Prolil-carboxipeptidase
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEP	Prolil-endopeptidase
pg	Picogramas
pmol	Picomoles
ptn	Proteína
PVN	Núcleo paraventricular do hipotálamo
RNA	Ácido ribonucléico
rpm	Rotações por minuto
RPR	Receptor de renina - pró-renina
RSNA	Atividade simpática do nervo renal
RVLM	Bulbo ventrolateral rostral
S26	Proteína ribossômica
SFO	Órgão subfornicial
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático

SON	Núcleo supra-óptico do hipotálamo
SRA	Sistema renina angiotensina
U.I	Unidades internacionais
UNX	Uninefrectomia Grupo controle de ratos normotensos
V <sub>1</sub>	Receptor para arginina-vasopressina, subtipo 1
VD	Ventrículo direito
VE	Ventrículo esquerdo
VL	Ventrículo lateral cerebral
μg	Micrograma
μl	Microlitro
μm	Micrômetro
μmol	Micromol

# SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	<b>1</b>
1.1 Hipertensão Arterial .....	1
1.2 Sistema Renina Angiotensina .....	2
1.3 O SRA cerebral .....	6
1.3.1 SRA cerebral e Hipertensão Arterial .....	7
1.3.1.1 Ações centrais da Ang II via receptor AT <sub>1</sub> .....	10
1.3.1.2 Ações centrais da Ang-(1-7) na Hipertensão Arterial .....	13
1.4 Modelo de Hipertensão Arterial DOCA-sal .....	16
<b>2. Justificativa</b> .....	<b>19</b>
<b>3. Objetivo</b> .....	<b>20</b>
3.1 Objetivo geral .....	20
3.2 Objetivos específicos .....	20
<b>4. Material e Métodos</b> .....	<b>21</b>
4.1 Animais .....	21
4.2 Procedimentos gerais .....	21
4.3 Modelo de Hipertensão DOCA-sal .....	22
Uninefrectomia .....	22
Preparo e implante do DOCA .....	22
Ingestão de solução de NaCl 0,9% e KCl 0,2% .....	22
4.4 Infusão intracerebroventricular (ICV) crônica de angiotensina-(1-7) .....	23
Canulação ICV .....	23
Enchimento da mini-bomba osmótica .....	24
Avaliação da infusão ICV .....	24
Confirmação da canulação ICV .....	24

Técnica de Histologia .....	25
4.5 Grupos Experimentais .....	26
4.6 Parâmetros cardiovasculares avaliados em animais não-anestesiados .....	27
Canulação de artéria e veia femoral .....	27
Avaliação da PAM e FC basais .....	27
Avaliação do controle barorreflexo da FC .....	27
Avaliação da atividade autonômica cardíaca .....	28
4.7 Parâmetros cardiovasculares avaliados em animais anestesiados .....	29
Traqueostomia .....	29
Canulação de artéria e veia femoral .....	29
Isolamento do nervo renal .....	29
Registro da atividade simpática do nervo renal (RSNA) .....	30
Avaliação da atividade simpática basal .....	30
Avaliação do controle barorreflexo da atividade simpática .....	31
4.8 Análise tecidual: pesagem de tecidos, níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no VE e expressão de <i>mRNA</i> para os colágenos tipo I e III no VE .....	31
Pesagem de tecidos .....	31
Razão entre peso do ventrículo esquerdo (VE) e o comprimento da tíbia .....	32
Estimativa da existência de insuficiência cardíaca e pulmonar .....	32
Estimativa da hipertrofia renal .....	32
Níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no VE e expressão de <i>mRNA</i> para os colágenos tipo I e III no VE .....	32
Níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no ventrículo esquerdo .....	32
Coleta do Plasma .....	33

Homogeneização do VE .....	33
Extração das Amostras em Coluna BOND-ELUT C 18 .....	33
Radioimunoensaio (RIE) .....	33
Dosagem de Proteínas .....	34
Expressão de <i>mRNA</i> para os colágenos I e III por PCR em tempo real .	34
4.9 Análise estatística .....	36
4.10 Protocolos Experimentais .....	37
Avaliação da PAM e FC basais, sensibilidade do barorreflexo e tônus autonômico cardíaco em ratos não-anestesiados submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	37
Avaliação da atividade simpática basal e controle barorreflexo da atividade simpática em ratos anestesiados submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	38
Níveis plasmático e tecidual (ventrículo esquerdo) dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) e análise da expressão de <i>mRNA</i> para colágeno I e III no ventrículo esquerdo em ratos submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	39
<b>5. Resultados .....</b>	<b>40</b>
5.1 Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os parâmetros cardiovasculares de ratos não-anestesiados submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal .....	40
5.1.1 Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) basais .....	40
5.1.2 Avaliação do controle barorreflexo da frequência cardíaca .....	43
5.1.3 Avaliação da atividade autonômica cardíaca .....	46

5.2 Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os parâmetros cardiovasculares basais, atividade simpática basal e controle barorreflexo da atividade simpática de ratos anestesiados submetidos ao modelo de hipertensão arterial DOCA-sal .....	49
5.2.1 Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) basais .....	49
5.2.2 Avaliação da atividade simpática basal para o nervo renal .....	51
5.2.3 Avaliação da Sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática ....	52
5.3 Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre o peso de tecidos de ratos submetidos ao modelo de hipertensão arterial DOCA-sal .....	55
5.3.1 Peso do ventrículo esquerdo .....	55
5.3.2 Peso do ventrículo Direito, Lobo Pulmonar esquerdo e Rim remanescente ....	56
5.4 Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos submetidos ao modelo de hipertensão DOCA-sal .....	57
5.5 Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre a expressão de <i>mRNA</i> para os Colágenos tipo I e III no ventrículo esquerdo de ratos submetidos ao modelo de hipertensão DOCA-sal .....	60
<b>6. Resumo dos Resultados .....</b>	<b>62</b>
<b>7. Discussão .....</b>	<b>63</b>
7.1 Considerações sobre o modelo de hipertensão arterial DOCA-sal e o SRA cerebral .....	63
7.2 Ang-(1-7) cerebral como um mediador da atenuação da hipertensão arterial ....	65
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>78</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Hipertensão arterial

A hipertensão arterial é uma doença cardiovascular de alta prevalência, que acomete aproximadamente 15 % da população mundial. No Brasil, são acometidos, pelo menos, 35% da população adulta e 5% da população juvenil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Além disso, é o maior fator de risco para outras doenças cardiovasculares, tais como: lesões vasculares, isquemia cardíaca, acidente vascular encefálico e insuficiência renal.

Caracterizada pelo aumento persistente da pressão arterial e de sua variabilidade, esta doença resulta da anormalidade dos mecanismos de controle da pressão arterial. Sendo de etiologia multifatorial, a hipertensão arterial normalmente é consequência de uma interação entre a predisposição genética e fatores ambientais, tais como o sedentarismo; a obesidade; elevada ingestão de sódio, de álcool; o estresse emocional; dentre outros fatores (KRIEGER e PEREIRA, 2005; RIBEIRO *et al.*, 1997).

Apesar do enorme esforço científico em elucidar as alterações fisiológicas relacionadas com o aumento sustentado da pressão arterial, ainda pouco se sabe a esse respeito. Um número crescente de estudos mostra uma participação crítica do Sistema Nervoso Central (SNC) no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão arterial. Em particular, alterações no Sistema Nervoso Simpático (SNS), no Sistema Renina Angiotensina (SRA) cerebral e no controle barorreflexo parecem contribuir para a patogênese da hipertensão (VEERASINGHAM e RAIZADA, 2003; GUYENET, 2006).

## 1.2. O Sistema Renina Angiotensina

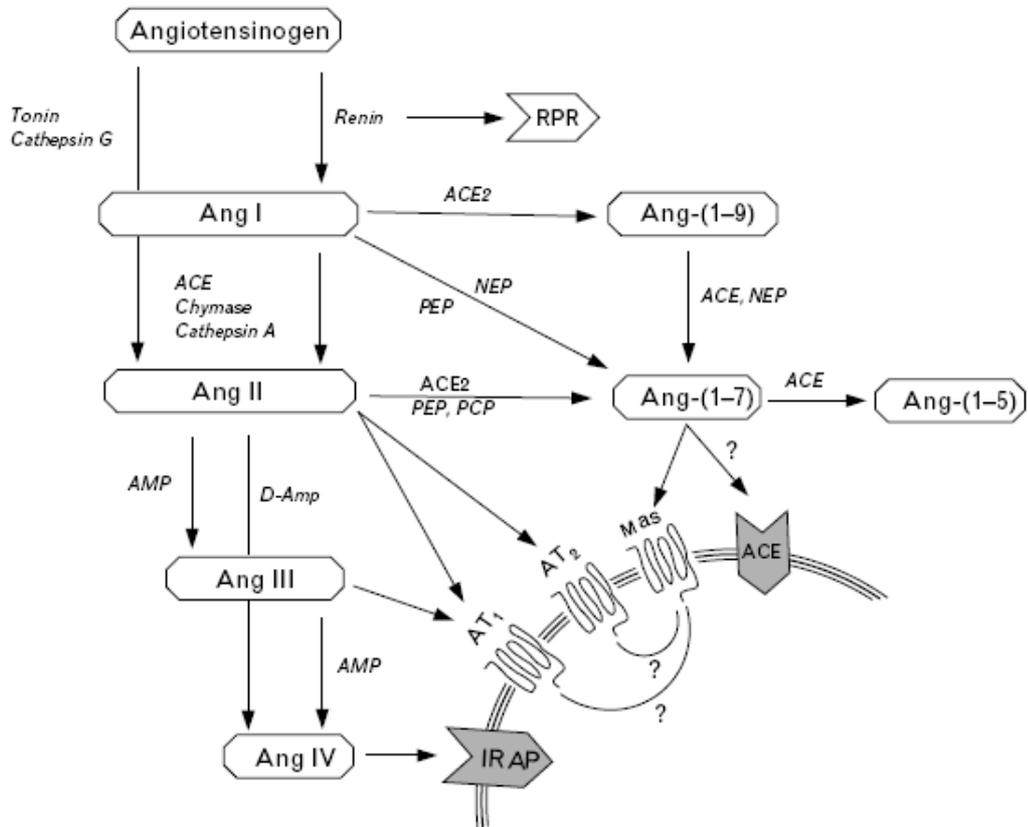
O SRA é um importante mecanismo humoral de regulação a médio e longo prazo da pressão arterial, devido seu papel integrativo na preservação da estabilidade hemodinâmica, através da regulação do volume de fluido extracelular e do balanço de sódio, por seus efeitos tróficos cardíacos e vasculares e sua estreita relação com o Sistema Nervoso Autônomo (SNA).

Na definição clássica do SRA, este sistema é ativado por uma seqüência de hidrólises que têm início quando o angiotensinogênio, uma  $\alpha_2$ -globulina secretada pelo fígado, é liberado na corrente sanguínea. No sangue, o angiotensinogênio é hidrolisado pela Renina, uma aspartil protease, sintetizada pelas células justaglomerulares localizadas nas arteríolas aferentes renais, formando o decapeptídeo Angiotensina (Ang) I. Esta é, em seguida, hidrolisada pela Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), uma dipeptidilcarboxipeptidase, formando o octapeptídeo Ang II, considerado por muito tempo o único peptídeo ativo do SRA (PEACH, 1977).

Desde a década de 70, o entendimento sobre o SRA vem sendo ampliado em muitos aspectos. Inicialmente, foram descritos outros peptídeos biologicamente ativos, como a Ang III, a Ang IV e a Ang-(1-7), o que caracterizou o SRA como um sistema de múltiplos mediadores. Mais recentemente, também foram identificadas outras enzimas capazes de hidrolisar o angiotensinogênio ou a Ang I formando os diferentes peptídeos bioativos deste sistema (Figura 1; ARDAILLOU, 1997, DONOGHUE *et al.*, 2000; TIPNIS *et al.*; 2000).

Deste modo, na visão atual do SRA, a Ang II pode ser formada tanto pela ECA, como também pela hidrólise direta do angiotensinogênio pela Catepsina G ou Tonina; ou pela hidrólise da Ang I pelas Quimases ou Catepsina A. Uma vez formada, a Ang II pode

ser hidrolisada por aminopeptidases (AMP), originando a Ang III; ou hidrolisada por D-AMP, originando a Ang IV; ou, ainda, pode originar a Ang-(1-7) como será descrito adiante (Figura 1).



**Figura 01** – Esquema simplificado das vias proteolíticas de formação das angiotensinas biologicamente ativas e de metabólitos inativos; ACE=enzima conversora de angiotensina; ACE2=enzima homóloga à ACE; Amp=aminopeptidases; Ang= angiotensina; AT: receptores de angiotensina II; IRAP= aminopeptidase regulada pela Insulina; Mas= receptor de angiotensina-(1-7); NEP=endopeptidase neutra; PCP=prolil-carboxipeptidase; PEP=prolil-endopeptidase; RPR=receptor de renina - pró-renina (Extraído de Santos e Ferreira, 2007).

A Ang II é, tradicionalmente, conhecida pelas suas ações hipertensivas no sistema cardiovascular, tais como: vasoconstrição; estímulo à liberação de Arginina-vasopressina (AVP) e aldosterona; estímulo à sede e apetite ao sódio; efeitos tróficos cardíacos e vasculares, efeitos modulatórios sobre a atividade do SNS, sobre a síntese de radicais livres, prostanóides e citocinas (DZAU *et al.*, 1988; CULMAN, 1995; SANTOS *et al.*, 2000).

As ações da Ang II são mediadas por receptores específicos, o AT<sub>1</sub> (subdividido em AT<sub>1a</sub> e AT<sub>1b</sub>, em roedores) e o AT<sub>2</sub>, ambos localizados na membrana celular e acoplados a uma proteína G. A maioria das ações hipertensivas da Ang II na vida adulta são mediadas pelo receptor AT<sub>1</sub>, ao passo que o receptor AT<sub>2</sub> tem maior expressão na vida embrionária e sua expressão na vida adulta relaciona-se com efeitos modulatórios àqueles exercidos via receptor AT<sub>1</sub>, tais como: efeitos antiproliferativos, estímulo à diferenciação celular e vasodilatação (TIMMERMANS *et al.*, 1993).

Dentre os outros peptídeos ativos do SRA, podemos citar a Ang-(1-7), foco de nosso estudo. A Ang-(1-7) pode ser formada tanto pela hidrólise direta da Ang I por endopeptidases neutras (NEP) ou prolil-endopeptidases (PEP), como também pela hidrólise direta da Ang II pela PEP ou prolil-carboxipeptidases. Além disso, pode ser formada por vias que envolvem a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2), uma enzima homóloga à ECA (DONOGHUE *et al.*, 2000; TIPNIS *et al.*, 2000), contudo insensível aos inibidores de ECA e essencial à função cardíaca (TURNER e HOOPER *et al.*, 2002; CRACKOWER *et al.*, 2002). Nestas vias, a Ang-(1-7) pode ser formada pela hidrólise seqüencial da Ang I pela ECA2, formando Ang-(1-9) e esta hidrolisada pela ECA ou NEP gerando a Ang-(1-7); ou pode ser formada pela hidrólise direta da Ang II pela ECA2, sendo que a afinidade catalítica desta enzima é muito maior pela Ang II do que pela Ang I (RICE *et al.*, 2004). Uma vez formada, a Ang-(1-7) pode ser hidrolisada pela ECA, formando Ang-(1-5) (CHAPPELL *et al.*, 1998; DEDDISH *et al.*, 1998); ou por aminopeptidases, originando Ang-(2-7) e Ang-(3-7)

(CHAPPELL *et al.*, 1990; WELCHES *et al.*, 1991; NEVES *et al.*, 1995), que são peptídeos inativos.

As ações da Ang-(1-7) são mediadas pelo seu receptor específico de membrana celular, o receptor Mas, acoplado a uma proteína G (SANTOS *et al.*, 2003). Apesar da Ang-(1-7) mediar alguns efeitos semelhantes aos da Ang II, como a liberação de AVP (SCHIAVONE *et al.*, 1988), vários estudos mostraram que este peptídeo possui muitos outros efeitos que se opõem aos da Ang II via receptor AT<sub>1</sub>, constituindo um eixo contra-regulador endógeno à maioria das ações da Ang II. Dentre as principais ações da Ang-(1-7) que se opõem às da Ang II já foram descritas: efeitos anti-proliferativos, anti-arritmogênicos, vasodilatação, facilitação do controle barorreflexo, anti-angiogênese, modulação da excreção de sódio e modulação da atividade do SNS (SANTOS *et al.*, 2005).

Outro importante aspecto que ampliou o entendimento do SRA foi a identificação de seus componentes em diferentes tecidos, por meio de técnicas bioquímicas e moleculares. Isto fez com que o SRA fosse também caracterizado como um sistema tecidual, de ações parácrinas e autócrinas, muitas vezes atuando de forma complementar ao SRA circulante (SANTOS *et al.*, 2000). A formação dos peptídeos e das enzimas do SRA já foi descrita em vários tecidos, a citar: o coração, rins, adrenal, órgãos reprodutores e cérebro (BADER *et al.*, 2001; PAN, 2004; PAUL *et al.*, 2006).

Em particular, o SRA cerebral é de grande interesse na patogênese da hipertensão arterial, uma vez que este sistema atua como um modulador importante do SNA, do eixo hipotalâmico-hipofisário, da sensibilidade do barorreflexo e do estímulo à sede e ao apetite ao sódio, interferindo na homeostase cardiovascular e hidro-eletrolítica.

### 1.3. O SRA cerebral

O primeiro estudo que relacionou a Ang II com o SNC foi o de Bickerton e Buckley (1961), que mostrou que este peptídeo podia interagir com as terminações pós-ganglionares nos gânglios simpáticos e dentro do SNC, promovendo aumento da pressão arterial. Em seguida, foi mostrado que a simpatectomia ou tratamento com reserpina atenuava o aumento da pressão arterial em resposta à Ang II (ZIMMERMANN *et al.*, 1962; BAUM *et al.*, 1963). Também foi mostrado que a Ang II pode agir dentro do SNC, aumentando a liberação de catecolaminas na periferia (BENETATO *et al.*, 1964) e induzindo sede (EPSTEIN *et al.*, 1970).

Posteriormente, Ganten e cols (1971) mostraram que a Ang II poderia ser produzida no SNC, desempenhando um papel importante no desenvolvimento da hipertensão arterial. Estes achados sugeriram a formação e ações locais da Ang II no cérebro, em áreas providas de barreira hemato-encefálica (BHE). A confirmação da existência do SRA cerebral veio com o avanço das técnicas de biologia molecular, que identificaram a expressão do *mRNA* e a presença dos componentes do SRA em diferentes áreas cerebrais (BADER *et al.*, 2001; PAN, 2004; PAUL *et al.*, 2006). O angiotensinogênio foi identificado tanto em células gliais quanto em culturas neuronais puras. Uma vez produzido pela glia, o angiotensinogênio é liberado no espaço extracelular e pode ser captado pelos neurônios. Isso sugere que a síntese das angiotensinas cerebrais possa ocorrer em ambos os compartimentos, e o local de síntese determinará uma ação neurohormonal (síntese extracelular) ou neurotransmissora (síntese neuronal) das angiotensinas (PAUL *et al.*, 2006).

Antes de descrever a interação entre o SRA cerebral e a hipertensão arterial, serão apresentadas brevemente as principais áreas cerebrais relacionadas com o controle cardiovascular.

### **1.3.1. O SRA cerebral e a hipertensão arterial**

Na porção do hipotálamo anterior e suas conexões com os órgãos circumventriculares (CVOs) - Órgão Subfornicial (SFO) e Órgão vasculoso da Lâmina Terminal (OVLT) - estão presentes os neurônios mais rostrais do SNC relacionados com controle autonômico. A área pré-óptica mediana, o SFO e o OVLT compreendem a região ântero-ventral do 3º ventrículo (AV3V); esta região integra os sinais neurais provenientes do sistema límbico, do córtex e dos hormônios circulantes detectados pelo OVLT e SFO. A região AV3V é crítica na hipertensão arterial, equilíbrio hidro-eletrolítico e no controle da pressão arterial, possivelmente por mediar a interação entre Ang II, AVP e NE (PHILLIPS e SUMNERS, 1998). Lesões na Lâmina Terminal impedem o aumento da pressão arterial média e as respostas reflexas de inibição da atividade simpática renal e da liberação de renina circulante decorrentes do aumento na concentração cerebral de sódio ou Ang II (MAY *et al.*, 2000).

O sistema ventricular é constituído pelo líquido céfalo-raquidiano e possui a função de distribuir peptídeos e outras substâncias das regiões anteriores às posteriores do hipotálamo (dos ventrículos laterais para o 3º ventrículo), passando por áreas mesencefálicas até chegar ao 4º ventrículo e áreas bulbares (PHILLIPS e SUMNERS, 1998).

O hipotálamo integra as informações provenientes do sistema límbico, da região AV3V, córtex e tálamo, bem como oriundas da eminência mediana (PHILLIPS e SUMNERS, 1998). Em particular, o Núcleo Paraventricular do Hipotálamo (PVN) determina as

alterações hormonais (como a liberação de AVP, ocitocina, corticosterona, hormônios adeno-hipofisários) e autonômicas que descendem para o tronco encefálico e medula espinhal. O PVN é tonicamente modulado por projeções GABAérgicas provenientes principalmente do Núcleo Dorsomedial Hipotalâmico, Núcleo Supraquiasmático e Lâmina Terminal (BENARROCH, 2005).

Neurônios parvocelulares da porção posterior, anterior e ventral do PVN, projetam-se para núcleos no tronco encefálico ou diretamente para a Coluna Intermédio-lateral (IML). No tronco encefálico, as principais áreas de convergência destas projeções são o Bulbo Ventrolateral Rostral (RVLM), o Núcleo do Trato Solitário (nTS) e o Locus Coeruleus (DAMPNEY, 1994; BENARROCH, 2005). Vias ascendentes bulbares se projetam direta ou indiretamente para o PVN, modulando a secreção de AVP e a simpato-excitação (DAMPNEY, 1994).

No bulbo há 3 (três) áreas integrativas da resposta cardiovascular, que são o nTS, a RVLM e o Bulbo Ventrolateral Caudal (CVLM). O nTS é a área de primeira sinapse das aferências dos barorreceptores, neurônios deste núcleo são projetados para o Núcleo Motor Dorsal do Vago (NMDV) e Núcleo Ambíguo (NA), os quais possuem os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos, e para a CVLM. A CVLM é a área simpato-inibitória do bulbo, e modula a atividade da RVLM, que é área simpato-excitatória bulbar. A RVLM integra as informações provenientes do PVN e da CVLM e projeta neurônios pré-motores simpáticos para IML. A RVLM e o PVN constituem as principais áreas que regulam o tônus simpático para a periferia (DAMPNEY, 1994; GUYENET, 2006).

Com relação ao controle barorreflexo, resumidamente, aumentos bruscos da pressão arterial são detectados pelos barorreceptores, localizados no seio carotídeo e arco aórtico. Estes neurônios de 1ª ordem (nervo depressor aórtico e nervo seio carotídeo)

fazem sinapse excitatória (glutamatérgica) com neurônios de 2ª ordem no nTS medial. Deste, outra projeção excitatória é enviada a CVLM, que por sua vez, projeta uma via GABAérgica, que atenua a simpato-excitação da RVLM, reduzindo assim o tônus simpático para tecidos periféricos. Do nTS, projeções excitórias também são enviadas ao Núcleo Motor Dorsal do Vago (NMDV) e Núcleo Ambiguo (NA), os quais possuem neurônios pré-ganglionares parassimpáticos; a ativação destes promove redução da frequência cardíaca (FC) (DAMPNEY, 1994).

Também é sugerido que os barorreceptores arteriais estejam envolvidos com o controle a longo prazo da pressão arterial, modulando a simpato-excitação destinada aos rins que, por fim, modula a excreção de sódio. Barrett e cols (2003) mostraram que a supressão da RSNA funciona como um mecanismo compensatório para a redução da hipertensão arterial, por aumentar a excreção de sódio (natriurese por pressão) reduzindo, assim, a pressão arterial. Além disso, foi mostrado que a desnervação do baroreceptor arterial prejudica a habilidade renal em manter o balanço de sódio durante a dieta com ingestão aumentada deste mineral e, que a longo prazo, ocorre aumento sustentado da pressão arterial associada à retenção de sódio (DiBONA *et al.*, 2002).

Assim, sugere-se que a progressiva disfunção do controle barorreflexo durante o desenvolvimento da hipertensão arterial seja um dos mecanismos que contribui para o aumento sustentado na atividade simpática (incluindo a RSNA) e na pressão arterial (DiBONA, 2004). Além disso, a disfunção barorreflexa pode ser determinada por mecanismos mais complexos que a simples alteração dessa via a nível bulbar, uma vez que os barorreceptores influenciam a atividade hipotalâmica que, por sua vez, modula o equilíbrio hidro-eletrolítico e a simpato-excitação. O SRA, por sua vez, modula a atividade de núcleos ou áreas hipotalâmicas e bulbares (BENARROCH, 2005; GUYENET, 2006).

### 1.3.1.1. Ações centrais da Ang II mediadas pelo receptor AT<sub>1</sub>

A Ang II, considerada ainda o principal peptídeo do SRA, constitui um mediador importante do desenvolvimento da hipertensão arterial, e muitos grupos de pesquisa procuram elucidar os mecanismos centrais relacionados com as ações deste peptídeo.

Com relação ao desenvolvimento da hipertensão arterial, a hiperatividade do SRA cerebral favorece cronicamente as ações da Ang II, via seu receptor AT<sub>1</sub>. As principais ações deste peptídeo, no que se refere à patogênese desta doença são: o aumento da simpato-excitação, liberação de AVP e atenuação do controle barorreflexo. Essas ações em conjunto promovem o aumento sustentado da pressão arterial (BENARROCH, 2005; GUYENET, 2006; AVERILL e DIZ, 2000).

A Ang II circulante também pode influenciar na atividade do SNC atuando nos CVOs (áreas desprovidas de BHE e ricas em capilares fenestrados), constituindo-se em uma via importante para a secreção de AVP e de hormônio liberador de corticotropina, ao estímulo à sede e ao apetite ao sódio, além de contribuir para a maior atividade do SRA cerebral e, conseqüentemente, maior simpato-excitação. A atividade da Ang II cerebral, por sua vez, pode aumentar tanto em função das ações da Ang II circulante nos CVOs quanto independentemente deste, agindo como um neuromodulador ou neurotransmissor, promovendo simpato-excitação e secreção hormonal (BADER *et al.*, 2001; PAN, 2004; BENARROCH, 2005).

O SFO é uma das principais áreas em que Ang II circulante exerce seus efeitos centrais. Este peptídeo aumenta a atividade de neurônios que se projetam para neurônios magnocelulares do núcleo supra-óptico (SON) e do PVN. Estudos de imunorreatividade mostram que estas projeções são angiotensinérgicas. O aumento da atividade destas vias estimula a síntese de ocitocina e AVP pela neuro-hipófise (PAN, 2004; BENARROCH,

2005). Além disso, o SFO também envia projeções angiotensinérgicas excitatórias diretas, ou indiretas (via interneurônios glutamatérgicos) para os neurônios parvocelulares simpato-excitatórios do PVN. Sabe-se também que existe uma co-localização de GABA e Ang II nos terminais axonais no SFO (PICKEL e CHAN, 1995), o que sugere que a Ang II module também as projeções GABAérgicas destinadas ao SFO. Portanto, a ativação do SFO via Ang II circulante promove uma resposta autonômica que integra tanto mecanismos neurais e humorais (PAN 2004; BENARROCH, 2005).

Os neurônios simpato-excitatórios do PVN enviam projeções angiotensinérgicas (via receptor  $AT_1$ ), glutamatérgicas ou AVPérgicas (via receptor  $V_1$ ) para a RVLM ou IML (TAGAWA e DAMPNEY, 1999; BENARROCH, 2005). A ação da Ang II no PVN está relacionada com a atividade inibitória tônica GABAérgica. A Ang II cerebral, localizada nos terminais pré-sinápticos dos neurônios GABAérgicos, promove inibição da atividade destes, reduzindo assim, a inibição tônica sobre os neurônios simpato-excitatórios do PVN, o que permite que um maior estímulo excitatório seja enviado à RVLM e IML. Estudos recentes mostram que a Ang II promove inibição destes neurônios por aumentar a produção de superóxido, reduzindo, conseqüentemente, as correntes pós-sinápticas inibitórias (PAN, 2004; CHEN e PAN, 2007). É importante ressaltar que a Ang II não exerce efeito direto sobre as correntes pós-sinápticas excitatórias dos neurônios glutamatérgicos no PVN, o que sugere que as ações da Ang II neste núcleo sejam preferencialmente sobre a modulação da atividade GABAérgica (LI et al, 2003).

A injeção ICV de Ang II, ou na área pré-óptica, no nTS, ou na RVLM aumenta a pressão arterial, sendo este efeito maior em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) quando comparados a ratos normotensos (CASTO e PHILLIPS, 1985; MATSUDA *et al.*, 1987; MURATANI *et al.*, 1991, WRIGHT *et al.*, 1987). Por outro lado, este mesmo peptídeo quando injetado na CVLM produz resposta contrária, ou seja, redução de pressão arterial, a

qual também é mais intensa no SHR (MURATANI et al 1991). Estudos com a injeção ICV de Losartan (antagonista de receptor AT<sub>1</sub>) corroboram com estes resultados, uma vez que reduziu a pressão arterial e a atividade simpática em ratos hipertensos, sem modificar estas variáveis em ratos normotensos (BERECEK *et al.*, 1987; PARK e LEENEN, 2001), o que sugere que uma maior densidade e/ou sensibilidade do receptor AT<sub>1</sub> ocorra durante a hipertensão arterial.

Outro mecanismo pelo qual a hiperatividade do SRA cerebral favorece o desenvolvimento da hipertensão arterial é via modulação do controle do barorreflexo. A Ang II exógena no nTS reduz a sensibilidade deste reflexo atuando tanto no componente vagal quanto no simpático. Já o bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub> neste núcleo, ou ICV, facilita o controle barorreflexo da FC em ratos SHR e normotensos (CASTO e PHILLIPS, 1985; CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1988; AVERILL e DIZ, 2000; DIZ *et al.*, 2002).

Além disso, parte dos efeitos hipertensivos da Ang II parece decorrer de sua conversão em Ang III. A Ang III é um potente estimulador neuronal, produzindo ações comparáveis com as da Ang II, como por exemplo, induz o aumento da taxa de disparo de neurônios do PVN (HARDING e FELIX, 1987). Mas, interessante, as respostas centrais da Ang III também são bloqueadas pelo antagonista do receptor AT<sub>1</sub>, sugerindo que ambos os peptídeos (Ang II ou Ang III) exerçam seus efeitos hipertensivos via receptor AT<sub>1</sub> (AMBÜHL *et al.*, 1992).

Estudos com animais transgênicos colaboraram para o maior entendimento do papel do SRA cerebral na hipertensão arterial. Estudo de Sakai e cols (2004) mostrou que o prejuízo do controle barorreflexo da FC mediado pela Ang II difere se a expressão deste peptídeo ocorre na glia ou em neurônios. A maior expressão de angiotensinogênio na glia está relacionada com a perda da sensibilidade do barorreflexo, ao passo que a maior

expressão em neurônios está relacionada com a mudança da faixa de funcionamento (*set point*). Estes autores também observaram que a maior expressão glial ocorre no PVN e nTS, enquanto a maior expressão neuronal ocorre, predominantemente, no Bulbo Ventrolateral (BVL), sugerindo também uma diferença funcional destas regiões na modulação do controle barorreflexo da FC. Por outro lado, animais transgênicos com deficiência do SRA cerebral apresentam maior sensibilidade do barorreflexo da FC e da RSNA (CALIGIORNE *et al.*, 2008), bem como um retardo no desenvolvimento de hipertensão arterial induzida pela infusão subcutânea de Ang II (BALTATU *et al.*, 2000) e atenuação no remodelamento e na disfunção cardíaca pós-infarto do miocárdio (LAL *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2004). Estes estudos sugerem que o SRA cerebral exerce um papel crítico e independente na homeostase cardiovascular e no desenvolvimento de lesões em órgãos-alvo, possivelmente pela modulação do tônus autonômico.

### **1.3.1.2. Ações centrais da Ang-(1-7) na hipertensão arterial**

O primeiro estudo que descreveu a ação biológica da Ang-(1-7) foi o de Schiavone e cols (1988), que mostrou que este peptídeo estimulava a liberação de AVP em explantes hipotalâmicos-hipofisários, de forma equipotente a Ang II, sugerindo a Ang-(1-7) como um neuromodulador endógeno. Estudo subsequente de Block e cols (1988) mostrou imunorreatividade para a Ang-(1-7) em diversas áreas cerebrais, incluindo o PVN, SON, Núcleo supraquiasmático, eminência mediana e neuro-hipófise. Além disso, a proteína Mas - atualmente reconhecida como um receptor da Ang-(1-7) - foi identificada no cérebro de ratos desde a década de 90 (BUNNEMANN *et al.*, 1990; MARTIN *et al.*, 1992).

Estudo recente em nosso laboratório de Becker e cols (2007) identificou o receptor Mas através de imunofluorescência em diversas áreas cerebrais, principalmente hipotálamo, CVOs e áreas bulbares, as quais estão relacionadas com a homeostase

cardiovascular e hidro-eletrolítica, corroborando com outros estudos que indicam que a Ang-(1-7) é um peptídeo modulador da regulação central da pressão arterial. O receptor Mas também foi identificado em regiões límbicas, hipocámpais e corticais. Estes autores também mostraram uma intensa co-localização do receptor Mas em neurônios GABAérgicos em áreas bulbares relacionadas ao controle cardiovascular; e uma co-localização visualmente inferior em neurônios catecolaminérgicos, sugerindo que as ações da Ang-(1-7), via receptor Mas, nos núcleos bulbares são preponderantes em neurônios GABAérgicos.

Estudos *in vitro* de Gironacci e cols (2000) mostraram que a Ang-(1-7) reduz a liberação de NE no hipotálamo por um mecanismo que envolve a síntese de óxido nítrico (NO) em animais normotensos. Posteriormente, estes mesmos autores (GIRONACCI *et al.*, 2004a) mostraram que esta ação da Ang-(1-7) é preservada em ratos SHR, e que envolve tanto o NO como a Bradicinina. Além disso, a Ang (1-7) inibe a liberação de NE induzida pela Ang II no hipotálamo de ratos hipertensos por coarctação de aorta (GIRONACCI *et al.*, 2004b). Como o NO estimula a potenciação das projeções inibitórias GABAérgicas para o PVN e, desta forma, reduz a simpato-excitação deste núcleo (LI *et al.*, 2002), possivelmente, este seja um mecanismo ativado pela Ang-(1-7).

Estudos propõem que, durante o desenvolvimento da hipertensão arterial, exista um déficit na formação ou nas ações periféricas e centrais da Ang-(1-7). Iyer e cols (1998 a, b) mostraram que o tratamento periférico com inibidores de ECA ou antagonista AT<sub>1</sub> em ratos SHR era seguido de um aumento na síntese de Ang-(1-7) e que este peptídeo participa dos efeitos anti-hipertensivos induzidos por esses tratamentos. Na mesma época, em nosso laboratório, Britto e cols (1997) mostraram que a melhora do controle barorreflexo produzida pelo tratamento oral com inibidor de ECA depende da formação e da ação da Ang-(1-7) no SNC. Estudo de Heringer-Walther e cols (2001) também mostrou resultados parecidos utilizando a infusão ICV de inibidor de ECA em ratos SHR.

A melhora do controle do barorreflexo da FC é um efeito clássico da Ang-(1-7) quando infundida ICV tanto em animais normotensos (CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1992; OLIVEIRA *et al.*, 1996) quanto hipertensos (HERINGER-WHALTER *et al.*, 2001). Por outro lado, quando microinjetada em núcleos específicos possui efeitos diferenciados. No nTS promove hipotensão, bradicardia (CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1989) e facilitação do controle barorreflexo em ratos SHR (CHAVES *et al.*, 2000). Quando microinjetada na RVLM produz aumento de pressão arterial (FONTES *et al.*, 1994) e na CVLM, efeito simpatoinibitório (SILVA *et al.*, 1993; ALZAMORA *et al.*, 2006). Estudo recente de Silva e cols (2005) mostrou que a microinjeção do A779 no PVN reduz a RSNA sem alterar a PAM e a FC basais, sugerindo que a Ang-(1-7) seja um modulador endógeno da simpato-excitação promovida por este núcleo, tanto em ratos normotensos quanto hipertensos por eucapnia-hipóxia intermitente. Por outro lado, Yamazato e cols (2007) mostram que o deslocamento do SRA cerebral a favor da síntese de Ang-(1-7), via super expressão de ECA2, na RVLM reduz a pressão arterial e a frequência cardíaca de ratos SHR. Resultados de Moura (2007) também mostram que camundongos transgênicos que super expressam o receptor Mas especificamente no cérebro apresentam elevados níveis basais de PAM, bem como facilitação da bradicardia barorreflexa.

Apesar dos achados da literatura parecerem contraditórios é importante ressaltar que o resposta final da alteração do SRA reflete um balanço entre as ações dos peptídeos angiotensinérgicos em diferentes áreas cerebrais. E no que diz respeito às doenças cardiovasculares, está bem estabelecido que as ações da Ang-(1-7) via receptor Mas, constituem uma via contra-reguladora endógena do SRA frente às ações hipertensivas da Ang II, via receptor AT<sub>1</sub> (SANTOS *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2005; SANTOS e FERREIRA., 2007).

#### 1.4. O modelo de hipertensão arterial DOCA-Sal

O modelo de hipertensão arterial DOCA-sal (DOCA: acetato de deoxicorticosterona) é considerado um modelo de hipertensão neurogênica caracterizado, principalmente, pela maior simpato-excitação, secreção de AVP e prejuízo do controle barorreflexo. Este modelo é também caracterizado pela baixa atividade do SRA circulante, devido ao *feed-back* negativo do mineralocorticóide e da maior ingestão de sódio sobre a liberação de renina (ITAYA *et al.*, 1986; SCHENK e McNIELL, 1992). A redução na atividade do SRA circulante diferencia o modelo DOCA-sal de outros modelos experimentais utilizados para o estudo da hipertensão arterial, tais como, os ratos SHR e 2K1C. Portanto, este modelo se torna muito interessante para investigar os efeitos teciduais dos peptídeos do SRA na gênese e manutenção da hipertensão arterial.

Estudos desde a década de 80 mostram que as alterações centrais encontradas no modelo DOCA-sal estão relacionadas tanto com efeitos diretos dos mineralocorticóides (JANIAK *et al.*, 1990; De NICOLA *et al.*, 1993) quanto da Ang II cerebral (WILSON *et al.*, 1986; ITAYA *et al.*, 1986; De NICOLA *et al.*, 1993; KUBO *et al.*, 2000; PARK e LEENEN, 2001).

As ações dos mineralocorticóides no SNC têm sido foco de muitos estudos. Gómez-Sanchez (1988) e Chen e cols. (1989) mostraram que a infusão ICV de pequenas doses de aldosterona aumentava a pressão arterial. O oposto também foi mostrado, que a infusão de doses muito baixas do antagonista do receptor para mineralocorticóide, reduzia a pressão arterial em animais DOCA-sal, sugerindo uma participação crítica do mineralocorticóide no SNC para o desenvolvimento da hipertensão DOCA-sal (GÓMEZ-SANCHEZ *et al.*, 1990; JANIAK *et al.*, 1990). Mais recentemente, Zhang e cols (2008) mostraram que a aldosterona (um mineralocorticóide), no SNC, aumenta a expressão de *mRNA* para o receptor AT<sub>1</sub> e

para a ECA, o estresse oxidativo celular e a simpato-excitação no PVN, o que sugere um estímulo direto do mineralocorticóide sobre a hiperatividade do SRA cerebral e SNS. O bloqueio crônico do SRA cerebral, com inibidor de ECA ou antagonista AT<sub>1</sub>, atenua tanto o desenvolvimento, como a hipertensão DOCA-sal já estabelecida (ITAYA *et al.*, 1986; PARK e LEENEN, 2001), sugerindo este sistema como um importante mediador das ações centrais dos mineralocorticóides.

A maior simpato-excitação destinada ao coração promove efeitos diretos sobre a hipertrofia cardíaca (MORGAN e BAKER, 1991). Apesar de ainda não ter sido completamente elucidado, é bem provável que a maior simpato-excitação cardíaca seja um fator causal crítico do remodelamento e da hipertrofia cardíaca no modelo DOCA-sal. Vale ressaltar que, além das ações centrais, os mineralocorticóides atuam sobre diferentes tecidos, tais como: coração, vasos e rim; estas ações colaboram para as lesões em órgãos-alvo e o agravamento da hipertensão arterial.

No rim, o DOCA aumenta a atividade de canais para sódio e da Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase, bem como reduz o retorno do sódio do interstício para o lúmen do ducto coletor medular, por diminuir a permeabilidade paracelular. Além disso, o DOCA aumenta a permeabilidade osmótica à água induzida pela AVP. Estes efeitos em conjunto colaboram para a maior retenção de sódio e água (ORTIZ e GARVIN, 2001).

Nos vasos, o mineralocorticóide aumenta a resistência vascular em humanos (SCHMIDT *et al.*, 1999; WEHLING *et al.*, 1998), bem como reduz o fluxo coronariano (MOREAU *et al.*, 1996) por promover vasoconstricção das arteríolas coronarianas e estimular a atividade do receptor AT<sub>1</sub> e aumentar o estresse oxidativo (KUSHIBIKI *et al.*, 2007). O mineralocorticóide também promove uma venoconstricção mediada pela maior simpato-excitação e formação local de endotelina-1 (FINK *et al.*, 2000).

No coração, o mineralocorticóide possui ações arritmogênicas (DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002) e estimula a síntese do receptor AT<sub>1</sub>, da ECA e do receptor de endotelina-1 e da bradicinina (ROBERT *et al.*, 1999; DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002). Apesar de ainda não estar bem elucidado, sugere-se que um dos principais mecanismos dos mineralocorticóides sobre o processo fibrótico cardíaco frente às doenças cardiovasculares seja o estímulo às ações hipertróficas e fibróticas da Ang II (ROBERT *et al.*, 1999; SILVESTRE *et al.*, 1999). Por outro lado, estudos também sugerem que o mineralocorticóide possua efeitos fibróticos diretos. Estudos *in vitro* mostraram que o mineralocorticóide estimula a maior expressão gênica para o colágeno I e III (BRILLA *et al.*, 1994), bem como a síntese de colágeno, em fibroblastos cardíacos de rato adulto (BRILLA, 2000). Posteriormente, foi mostrado que, diferente do Losartan, o antagonista do receptor para mineralocorticóide (espirolactona) preveniu a proliferação de colágeno por mecanismos independentes da sobrecarga pressórica sobre as câmaras cardíacas (MILL *et al.*, 2003). Além disso, o mineralocorticóide estimula a atividade da metalo-proteinase (MMP) – 2 e MMP – 9 em cultura de miócitos ventriculares de rato adulto, por mecanismos relacionados com a ativação do receptor para mineralocorticóide, proteína cinase C, maior fosforilação da proteína cinase regulada por mitógeno (MEK) e da proteína cinase 1/2 regulada por sinal extracelular (ERK1/2) e maior formação de espécies reativas de oxigênio (RUDE *et al.*, 2005).

Recentemente, Grobe e cols (2006) estudaram a influência da administração crônica subcutânea de Ang-(1-7) no modelo DOCA-sal e observaram que este peptídeo reduziu o remodelamento cardíaco e perivascular, sem afetar a pressão arterial sistólica, a resposta pressórica à infusão endovenosa de Ang II, nem o peso do ventrículo esquerdo e o diâmetro dos cardiomiócitos, sugerindo uma ação seletiva da Ang-(1-7) periférica sobre o remodelamento cardíaco, independente da pressão arterial.

## 2. JUSTIFICATIVA

O eixo Ang-(1-7)/ receptor *Mas* apresenta efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular, sendo um importante contra-regulador de uma série de ações mediadas pela Ang II. A estimulação deste eixo contribui para melhorar a atividade do controle barorreflexo da FC e possui uma correlação positiva direta com a redução na deposição de colágeno no coração. O aumento da formação de Ang-(1-7) no SNC durante o tratamento com inibidores de ECA e/ou antagonistas de receptor AT<sub>1</sub>, mostra que esse peptídeo está envolvido com os efeitos benéficos dessas classes de agentes anti-hipertensivos. No entanto, ainda não foram elucidados os efeitos do aumento crônico dos níveis centrais de Ang-(1-7) durante a progressão da hipertensão arterial, sensibilidade do controle barorreflexo e remodelamento do ventrículo esquerdo.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar se o aumento crônico dos níveis centrais de Ang-(1-7) altera o controle da pressão arterial e o remodelamento cardíaco induzido pelo modelo DOCA-Sal.

#### 3.2 Objetivos específicos

1) Avaliar se a infusão ICV crônica (14 dias) de Ang-(1-7) altera os níveis basais de PAM e de FC após 21 dias de hipertensão arterial DOCA-Sal.

2) Avaliar se a infusão ICV crônica (14 dias) de Ang-(1-7) altera o controle barorreflexo da FC e o tônus autonômico cardíaco após 21 dias de hipertensão arterial DOCA-Sal.

3) Avaliar se a infusão ICV crônica (14 dias) de Ang-(1-7) altera a RSNA basal e o controle barorreflexo da RSNA após 21 dias de hipertensão arterial DOCA-Sal.

4) Avaliar se a infusão ICV crônica (14 dias) de Ang-(1-7) altera a deposição de colágeno e os níveis de Ang II e Ang-(1-7) no ventrículo esquerdo de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-Sal.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os parâmetros cardiovasculares de ratos não-anestesiados submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal.

#### 5.1.1. Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) basais

A Tabela 3 reúne os valores basais de PAM e FC basais obtidos no 20º dia de hipertensão arterial. Como pode ser observado, o modelo DOCA-sal induziu um aumento de aproximadamente 40% na PAM (DOCA:  $158 \pm 2$  mmHg, n=6) quando comparado ao grupo UNX ( $113 \pm 5$  mmHg, n=8),  $p < 0,001$ . Este aumento foi atenuado em 50% nos animais que receberam infusão ICV crônica de Ang-(1-7) ( $134 \pm 6$  mmHg, n=8 vs DOCA),  $p < 0,01$ . Apesar desta importante atenuação, os valores basais de PAM do grupo DOCA-A7 ainda foram superiores àqueles observados no grupo UNX,  $p < 0,01$  (Tabela 3 e Figura 3).

Com relação à frequência cardíaca (FC) basal, não houve diferença entre os grupos (DOCA:  $368 \pm 15$  bpm, n=6; DOCA-A7:  $345 \pm 13$  bpm, n=8; UNX:  $343 \pm 11$  bpm, n=8) (Tabela 3 e Figura 4).

Tabela 3. Valores basais de Pressão Arterial Média (PAM, mmHg) e de Frequência Cardíaca (FC, bpm) obtidos no 20º dia de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	n	PAM (mmHg)	FC (bpm)
UNX	8	113 ± 5	343 ± 11
DOCA	6	158 ± 2 ***	368 ± 15
DOCA-A7	8	134 ± 6 ** ##	345 ± 13

Valores expressos como média ± EPM; \*\* $p < 0,01$  vs UNX; \*\*\* $p < 0,001$  vs UNX; ## $p < 0,01$  vs DOCA  
n = número de animais

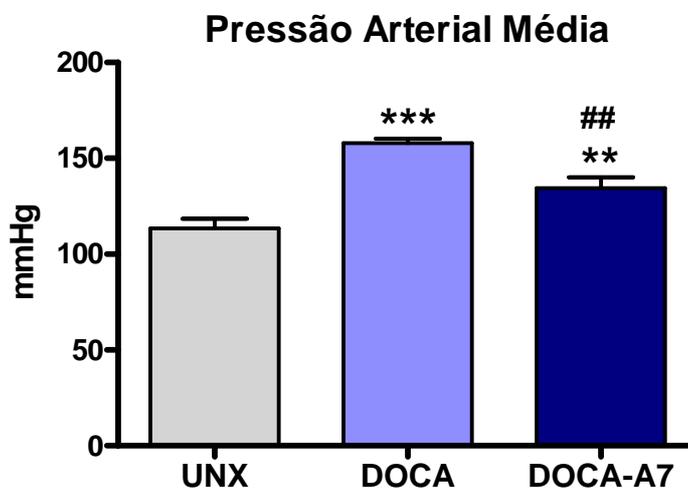


Figura 3. Pressão arterial média basal de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=8; DOCA, n=6; DOCA-A7, n=8. Os valores estão expressos como média ± EPM. \*\*  $p < 0,01$  vs UNX; \*\*\*  $p < 0,001$  vs UNX; ##  $p < 0,01$  vs DOCA.

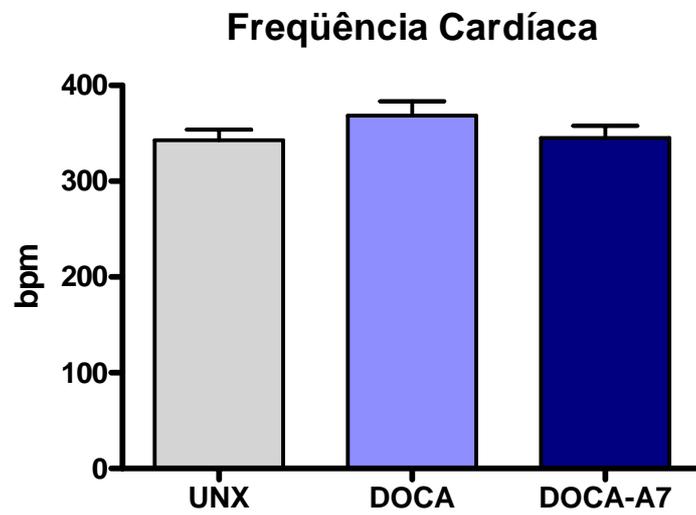


Figura 4. Freqüência cardíaca basal de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal; UNX, n=8; DOCA, n=6; DOCA-A7, n=8. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM.  $p > 0,05$ .

### 5.1.2. Avaliação do controle barorreflexo da frequência cardíaca

A Tabela 4 e a Figura 5 mostram o efeito da hipertensão arterial DOCA-sal sobre o índice de sensibilidade do controle barorreflexo da FC (índice de bradicardia barorreflexa). Como apresentado, este índice foi reduzido em, aproximadamente, 50% no grupo DOCA ( $0,54 \pm 0,08$  ms/ mmHg, n=6) em relação ao UNX ( $1,07 \pm 0,08$  ms/ mmHg, n=8),  $p < 0,01$ . Por outro lado, a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) reverteu completamente esta redução promovida pela hipertensão (DOCA-A7:  $1,26 \pm 0,12$  ms/ mmHg vs DOCA;  $p < 0,001$ ), sendo o índice deste grupo semelhante ao observado no UNX.

A melhora do índice de bradicardia barorreflexa após a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) também pode ser observada quando se compara quando se compara as retas que correlacionam alterações reflexas de FC com as alterações de PAM. A Figura 6 mostra que o grupo DOCA-A7 e o grupo UNX apresentam valores de “set point” (interseção da reta no eixo Y) e da inclinação da reta (ganho do barorreflexo) são similares. Assim, para uma mesma variação de PAM, os animais desses grupos apresentam maiores quedas de FC, quando comparados ao grupo DOCA.

Tabela 4. Índice de Sensibilidade do Controle Barorreflexo da frequência cardíaca (ms/ mmHg) no 20º dia de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	Índice de Bradicardia Barorreflexa (ms/ mmHg)
UNX (8)	$1,07 \pm 0,08$
DOCA (6)	$0,54 \pm 0,08$ **
DOCA-A7 (6)	$1,26 \pm 0,12$ ###

Valores expressos como média  $\pm$  EPM; \*\* $p < 0,01$  vs UNX;  
###  $p < 0,001$  vs DOCA  
n = número de animais

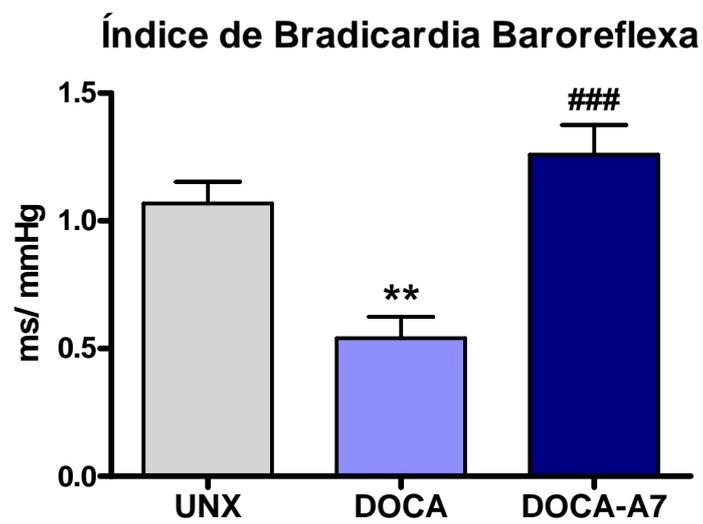


Figura 5. Índice de bradicardia barorreflexa de ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=8; DOCA, n=6; DOCA-A7, n=6. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*  $p < 0,01$  vs UNX; ###  $p < 0,001$  vs DOCA.

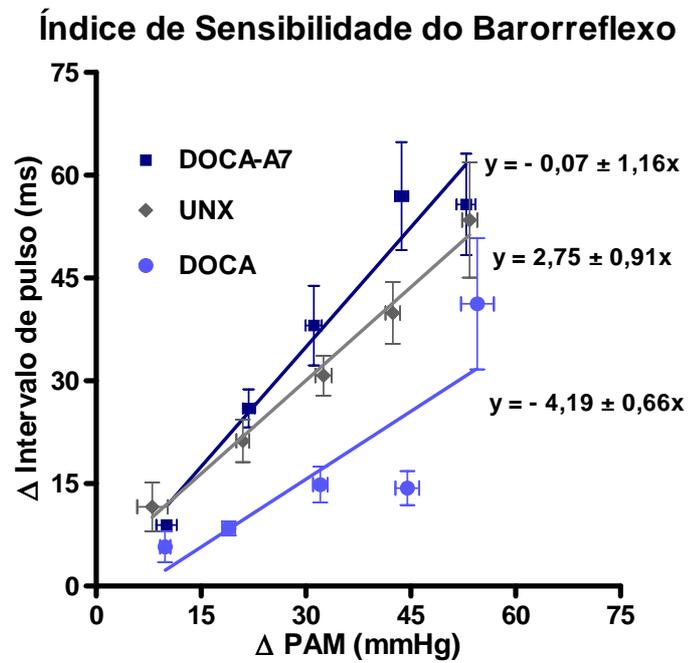


Figura 6. Correlação entre as alterações barorreflexas de FC, expressas em intervalo de pulso (ms) e as alterações de pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas pela injeção endovenosa em *bolus* de doses crescentes de fenilefrina em ratos não-anestesiados após 20 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. Inclinação da reta de melhor ajuste obtido por regressão linear representa o ganho do barorreflexo. Equação da reta do UNX:  $y=2,75 \pm 0,91x$ ; DOCA:  $y= -4,19 \pm 0,66x$ ; DOCA-A7:  $y= -0,07 \pm 1,16x$ .

### 5.1.3. Avaliação da atividade autonômica cardíaca

Os resultados da avaliação da atividade autonômica cardíaca estão apresentados na Tabela 5 e nas Figuras 7, 8 e 9. Como mostra a Tabela 5 e a Figura 7, a hipertensão arterial DOCA-sal aumentou em 52% o tônus simpático para o coração (DOCA:  $118 \pm 13$  bpm,  $n=5$ ) em relação ao UNX ( $77 \pm 12$  bpm,  $n=7$ ),  $p<0,05$ . Este efeito foi completamente revertido com a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) ( $72 \pm 8$  bpm,  $n=6$  vs DOCA;  $p<0,05$ ); sendo os valores deste grupo semelhantes aos do grupo UNX.

Além do aumento de tônus simpático, a hipertensão DOCA-sal promoveu uma considerável redução (~ 44%) do tônus parassimpático ao coração (DOCA:  $35 \pm 9$  bpm,  $n=5$ ) em relação ao grupo UNX ( $78 \pm 8$  bpm,  $n=7$ );  $p<0,05$ . Ao passo que, a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) reverteu completamente esta redução ( $72 \pm 9$  bpm,  $n=6$  vs DOCA;  $p<0,05$ ). Os valores observados no grupo DOCA-A7 foram semelhantes àqueles do grupo UNX. (Tabela 5 e Figura 8).

Outro resultado interessante foi que a FC intrínseca reduziu tanto no grupo DOCA ( $314 \pm 7$  bpm,  $n=5$ ;  $p<0,05$ ) como no grupo DOCA-A7 ( $320 \pm 9$  bpm,  $n=6$ ;  $p<0,01$ ) quando comparados ao UNX ( $357 \pm 9$  bpm,  $n=7$ ). A Tabela 5 e a Figura 9 mostram estes resultados.

Tabela 5. Alterações na frequência cardíaca (FC) correspondentes ao tônus parassimpático e tônus simpático (bpm) e valores de FC intrínseca (bpm) após o bloqueio farmacológico da atividade autonômica cardíaca em ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	n	Tônus Parassimpático	Tônus Simpático	FC intrínseca
		bpm	bpm	bpm
UNX	7	78 ± 8	77 ± 12	357 ± 9
DOCA	5	35 ± 9 **	118 ± 13 *	314 ± 7 *
DOCA-A7	6	72 ± 9 #	77 ± 12 #	320 ± 9 **

Valores expressos como média ± EPM; \* $p < 0,05$  vs UNX; \*\* $p < 0,01$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA  
n = número de animais

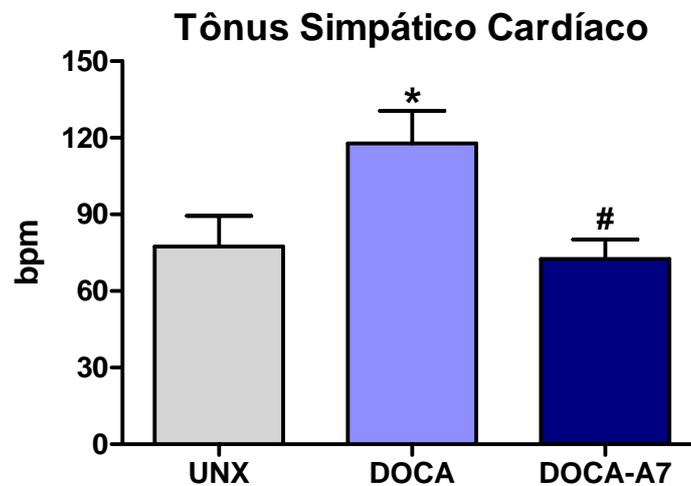


Figura 7. Tônus simpático cardíaco (bpm) de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=7; DOCA, n=5; DOCA-A7, n=6. Os valores estão expressos como média ± EPM. \*  $p < 0,05$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA.

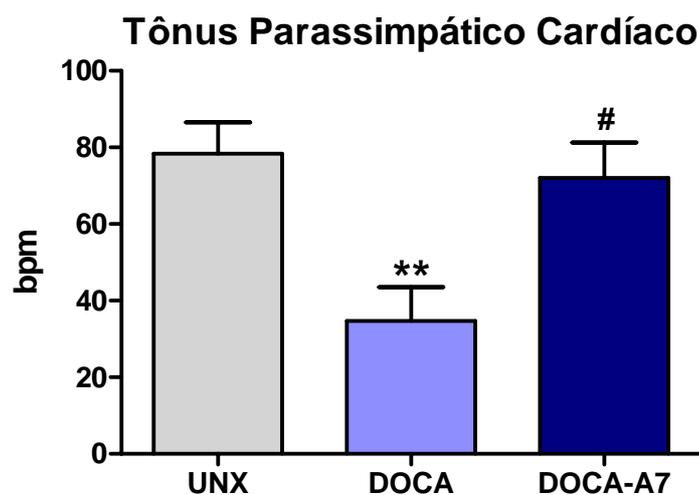


Figura 8. Tônus parassimpático cardíaco (bpm) de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal; UNX, n=7; DOCA, n=5; DOCA-A7, n=6. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*  $p < 0,01$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA.

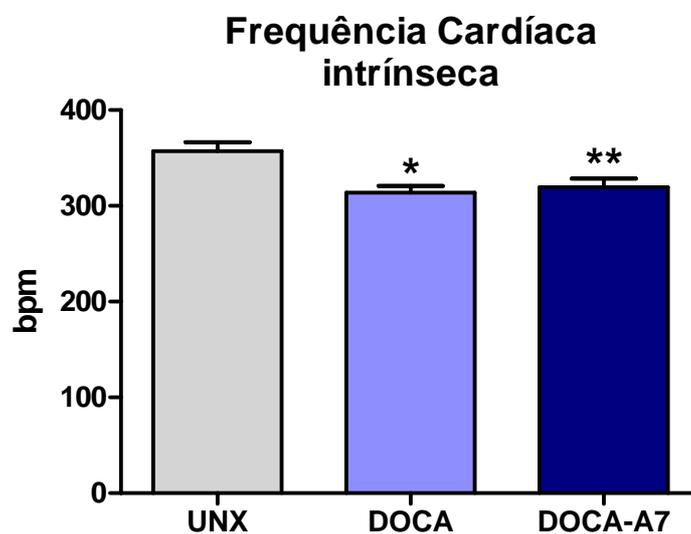


Figura 9. Frequência cardíaca intrínseca (bpm) de ratos não-anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal; UNX, n=7; DOCA, n=5; DOCA-A7, n=6. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  vs UNX; \*\*  $p < 0,01$  vs UNX.

## 5.2. Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os parâmetros cardiovasculares basais, atividade simpática basal e controle barorreflexo da atividade simpática de ratos anestesiados submetidos ao modelo de hipertensão arterial DOCA-sal.

### 5.2.1. Pressão Arterial Média e Frequência Cardíaca basais

Nos experimentos em animais anestesiados foi observado um aumento da PAM promovido pela hipertensão DOCA-sal tanto para o grupo DOCA ( $122 \pm 3$  mmHg,  $n=4$ ), quanto para o grupo DOCA-A7 ( $117 \pm 4$  mmHg,  $n=4$ ) comparados ao UNX ( $93 \pm 2$  mmHg,  $n=5$ ),  $p<0,001$ . Não houve diferença entre o grupo DOCA e DOCA-A7 (Tabela 6 e Figura 10).

Com relação à frequência cardíaca, diferente do observado em animais não-anestesiados, a FC basal tendeu a reduzir nos animais DOCA ( $313 \pm 14$  bpm,  $n=4$ ;  $p=0,058$ ), sendo esta redução significativa para o grupo DOCA-A7 ( $286 \pm 26$  bpm,  $n=4$ ;  $p<0,05$ ), em relação ao UNX ( $354 \pm 10$  bpm,  $n=5$ ) como mostra a Tabela 6 e a Figura 11.

Tabela 6. Valores basais de Pressão Arterial Média (PAM, mmHg) e de Frequência Cardíaca (FC, bpm) de ratos anestesiados no 21º dia de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	n	PAM (mmHg)	FC (bpm)
UNX	5	$93 \pm 2$	$354 \pm 10$
DOCA	4	$122 \pm 3$ ***	$313 \pm 14$
DOCA-A7	4	$117 \pm 4$ ***	$286 \pm 26$ *

Valores expressos como média  $\pm$  EPM; \* $p<0,05$  vs UNX, \*\*\* $p<0,001$  vs UNX; DOCA vs UNX,  $p=0,058$  (FC, bpm)  
n = número de animais

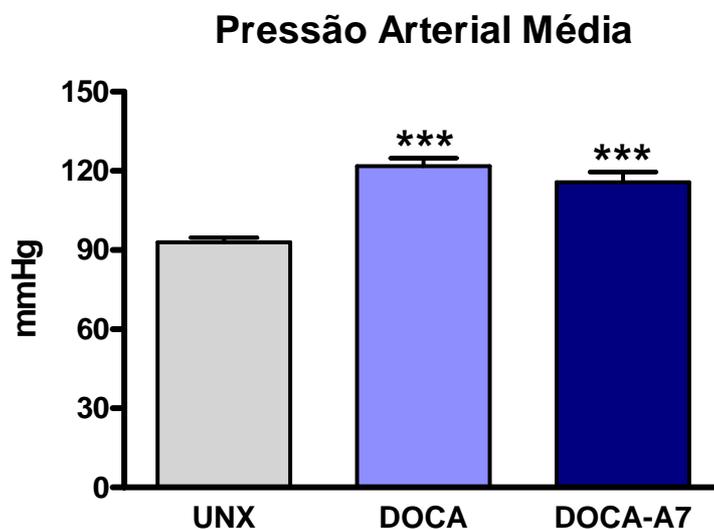


Figura 10. Pressão arterial média basal (mmHg) de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=5; DOCA, n=4; DOCA-A7, n=4. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*\*  $p < 0,001$  vs UNX.

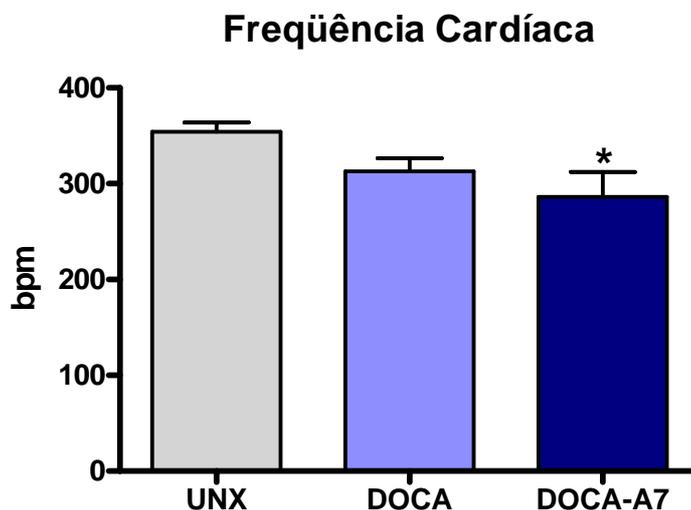


Figura 11. Frequência cardíaca basal de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal; UNX, n=5; DOCA, n=4; DOCA-A7, n=4. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  vs UNX; DOCA vs UNX,  $p = 0,058$ .

### 5.2.2. Avaliação da atividade simpática basal do nervo renal

A Tabela 7 apresenta os valores da atividade simpática basal do nervo renal (RSNA) em ratos anestesiados. Como pode ser observado, o modelo de hipertensão arterial DOCA-sal não alterou a RSNA. Do mesmo modo, a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) não modificou este parâmetro.

Tabela 7. Atividade simpática basal do nervo renal (RSNA, spikes/ segundo) e índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática ( $\Delta\%$  RSNA/ mmHg) de ratos anestesiados com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	RSNA spikes/segundo	Índice de Sensibilidade ( $\Delta\%$ RSNA/ mmHg)
UNX	118 $\pm$ 12 (4)	2,73 $\pm$ 0,29 (5)
DOCA	130 $\pm$ 17 (5)	1,33 $\pm$ 0,10 (4) **
DOCA-A7	113 $\pm$ 10 (4)	2,24 $\pm$ 0,20 (4) #

Valores expressos como média  $\pm$  EPM. \*\* $p < 0,01$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA. n = número de animais

### 5.2.3. Avaliação da Sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática

A Tabela 7 e as Figuras 12 e 13 mostram as alterações no índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática promovidas pelo modelo de hipertensão arterial DOCA-sal e pela infusão ICV crônica de Ang-(1-7). Observa-se que a hipertensão DOCA-sal reduziu o índice de sensibilidade ( $1,33 \pm 0,10 \Delta\% \text{ RSNA/ mmHg}$ ,  $n=4$ ) quando comparado ao grupo UNX ( $2,73 \pm 0,29 \Delta\% \text{ RSNA/ mmHg}$ ,  $n=5$ ;  $p<0,01$ ), ao passo que a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) bloqueou esta redução ( $2,24 \pm 0,20 \Delta\% \text{ RSNA/ mmHg}$ ,  $n=4$  vs DOCA;  $p<0,05$ ), sendo o índice observado no grupo DOCA-A7 semelhante ao do grupo UNX (Tabela 7 e Figura 12).

Esta melhora do índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática decorrente da infusão ICV crônica de Ang-(1-7) também pode ser observada quando se compara as retas que correlacionam alterações reflexas da atividade simpática e alterações da PAM (Figura 13). As retas que expressam esta relação para o grupo DOCA-A7 e a do grupo UNX estão deslocadas à esquerda em relação ao grupo DOCA, ou seja, há alteração no “set point” com pequena variação na inclinação das retas. Isso significa que para uma mesma variação de PAM, os animais controle e DOCA submetido à infusão central de Ang-(1-7) apresentam maiores quedas de atividade simpática quando comparados ao grupo DOCA.

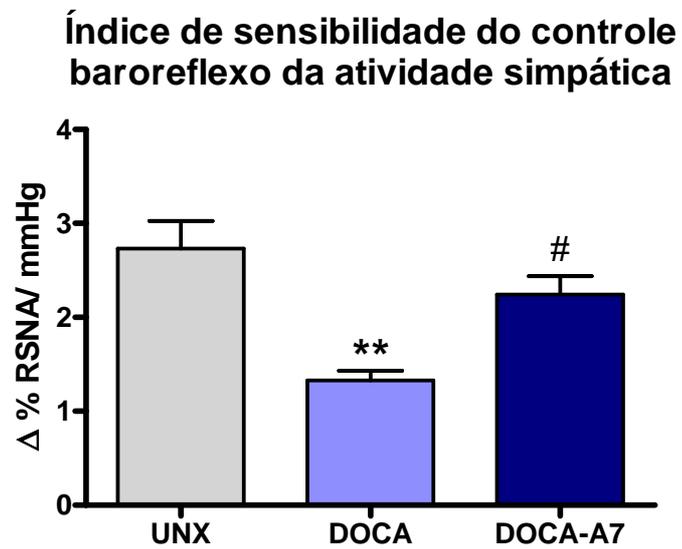


Figura 12. Índice de sensibilidade do controle barorreflexo da atividade simpática de ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=5; DOCA, n=4; DOCA-A7, n=4. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*  $p < 0,01$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA.

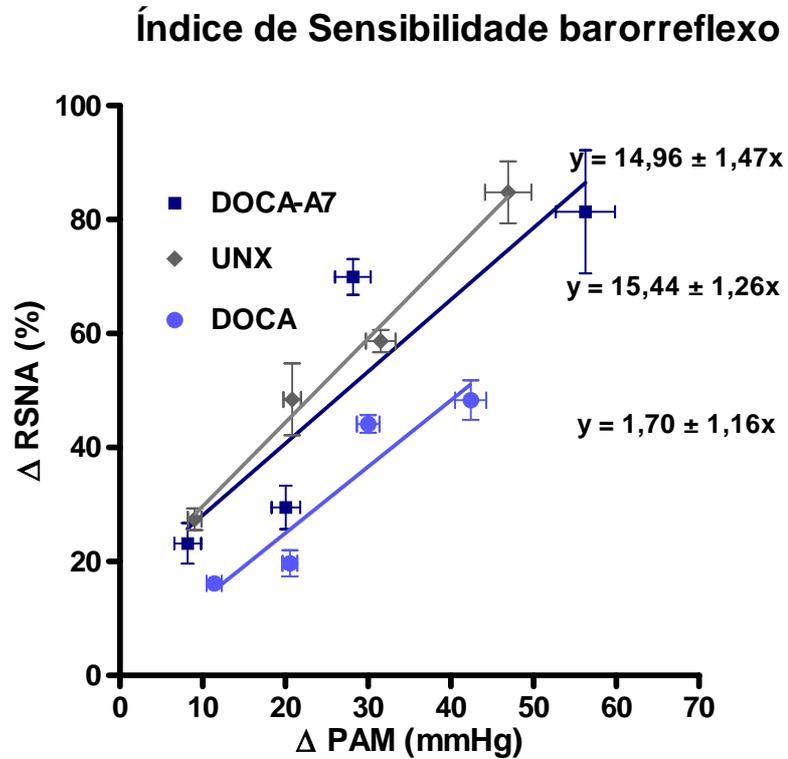


Figura 13. Correlação entre as alterações barorreflexas da atividade simpática renal (RSNA, %) e as alterações de pressão arterial média (PAM, mmHg) produzidas pela injeção endovenosa em *bolus* de doses crescentes de fenilefrina em ratos anestesiados após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. Inclinação da reta de melhor ajuste obtido por regressão linear representa o ganho do barorreflexo. Equação da reta do UNX:  $y=14,96 \pm 1,47x$ ; DOCA:  $y=1,70 \pm 1,16x$ ; DOCA-A7:  $y=15,44 \pm 1,26x$ .

### 5.3. Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre o peso de tecidos de ratos submetidos ao modelo de hipertensão arterial DOCA-sal.

#### 5.3.1. Peso do ventrículo esquerdo

Conforme apresentado na Figura 14, a razão entre o ventrículo esquerdo (VE) e o comprimento da tibia aumentou tanto no grupo DOCA ( $0,230 \pm 0,006$  mg/ cm,  $n=16$ ) como no grupo DOCA-A7 ( $0,229 \pm 0,005$  mg/ cm,  $n=19$ ) comparados ao UNX ( $0,203 \pm 0,005$  mg/ cm,  $n=14$ ),  $p<0,01$ . Este aumento na razão reflete uma hipertrofia cardíaca decorrente do modelo de hipertensão arterial DOCA-sal, não alterado pela infusão ICV crônica de Ang-(1-7).

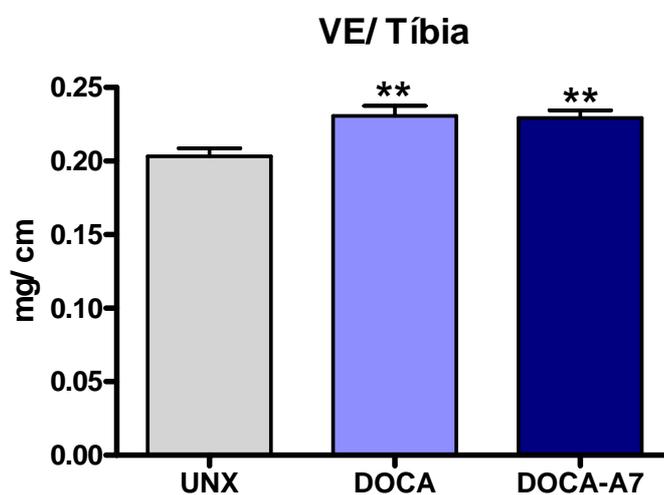


Figura 14. Razão entre o peso do ventrículo esquerdo (VE) e o comprimento da tibia - estimativa de hipertrofia cardíaca - de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal. UNX,  $n=14$ ; DOCA,  $n=16$ ; DOCA-A7,  $n=19$ . Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*  $p<0,01$  vs UNX.

### 5.3.2. Peso do ventrículo Direito, Lobo Pulmonar esquerdo e Rim remanescente

A Tabela 8 reúne os valores obtidos para as razões: ventrículo direito (VD)/ comprimento da tibia; rim remanescente (RIM)/ comprimento da tibia; peso do lobo pulmonar esquerdo (LPE) úmido/ seco. Não houve diferença quanto ao VD/ tibia nem LPE úmido/seco entre os grupos experimentais.

Com relação à estimativa da hipertrofia renal (peso do rim remanescente), a razão entre o peso do rim remanescente e o comprimento da tibia aumentou tanto nos animais do grupo DOCA ( $0,59 \pm 0,02$  mg/ cm, n=13) quanto no grupo DOCA-A7 ( $0,61 \pm 0,02$  mg/ cm, n=17), quando comparados ao UNX ( $0,44 \pm 0,01$  mg/ cm, n=12);  $p < 0,001$ . Não houve diferença entre os grupos de animais hipertensos (Tabela 8)

Tabela 8. Peso dos tecidos: ventrículo direito (VD) e rim remanescente (RIM), normalizados pelo comprimento da tibia e razão entre peso do lobo pulmonar esquerdo (LPE) úmido/seco de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal

Grupo experimental	VD/ tibia (mg/ cm)	LPE úmido/seco	RIM/ tibia (mg/ cm)
UNX	$0,052 \pm 0,005$ (11)	$4,812 \pm 0,093$ (14)	$0,442 \pm 0,015$ (12)
DOCA	$0,057 \pm 0,002$ (7)	$4,894 \pm 0,106$ (15)	$0,589 \pm 0,019$ (13) ***
DOCA-A7	$0,052 \pm 0,005$ (8)	$4,851 \pm 0,057$ (18)	$0,610 \pm 0,021$ (17) ***

Valores expressos como média  $\pm$  EPM. \*\*\*  $p < 0,001$  vs UNX  
( ) número de animais

#### **5.4. Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre os níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos submetidos ao modelo de hipertensão DOCA-sal.**

As Tabelas 9 e 10 e a Figura 15 apresentam os resultados obtidos quanto aos níveis dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e ventrículo esquerdo no 21º dia de hipertensão arterial DOCA-sal. Observa-se que a hipertensão arterial DOCA-sal não alterou os níveis basais dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) tanto no plasma quanto no ventrículo esquerdo dos animais do grupo DOCA e DOCA-A7, quando comparados ao UNX (Tabela 9 e Figura 15, A – D) nem a razão entre estes, tanto no plasma como no ventrículo esquerdo (Tabela 10 e Figura 15, E e F). A infusão ICV crônica de Ang-(1-7) também não modificou estes valores.

Tabela 9 – Imunorreatividade dos peptídeos Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal

Grupo experimental	Plasma (pg/ ml plasma)		Ventrículo esquerdo (pg/ mg proteína)	
	Ang-(1-7)	Ang II	Ang-(1-7)	Ang II
UNX	39,0 ± 3,2 (5)	27,7 ± 7,0 (5)	13,1 ± 1,6 (14)	7,4 ± 1,5 (14)
DOCA	42,9 ± 4,2 (6)	19,0 ± 4,8 (6)	10,3 ± 1,1 (8)	4,8 ± 0,4 (8)
DOCA-A7	47,2 ± 7,6 (4)	16,7 ± 1,1 (4)	9,5 ± 1,4 (11)	5,0 ± 0,7 (11)

Valores expressos como média ± EPM  
( ) número de animais

Tabela 10 - Razão entre a imunorreatividade dos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II no plasma e no ventrículo esquerdo de ratos com 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal

Grupo experimental	Plasma	Ventrículo esquerdo
	Ang-(1-7)/ Ang II	Ang-(1-7)/ Ang II
UNX	1,80 ± 0,44 (5)	2,32 ± 0,37 (14)
DOCA	3,10 ± 0,84 (6)	2,22 ± 0,26 (8)
DOCA-A7	2,94 ± 0,68 (4)	2,05 ± 0,33 (11)

Valores expressos como média ± EPM  
( ) número de animais

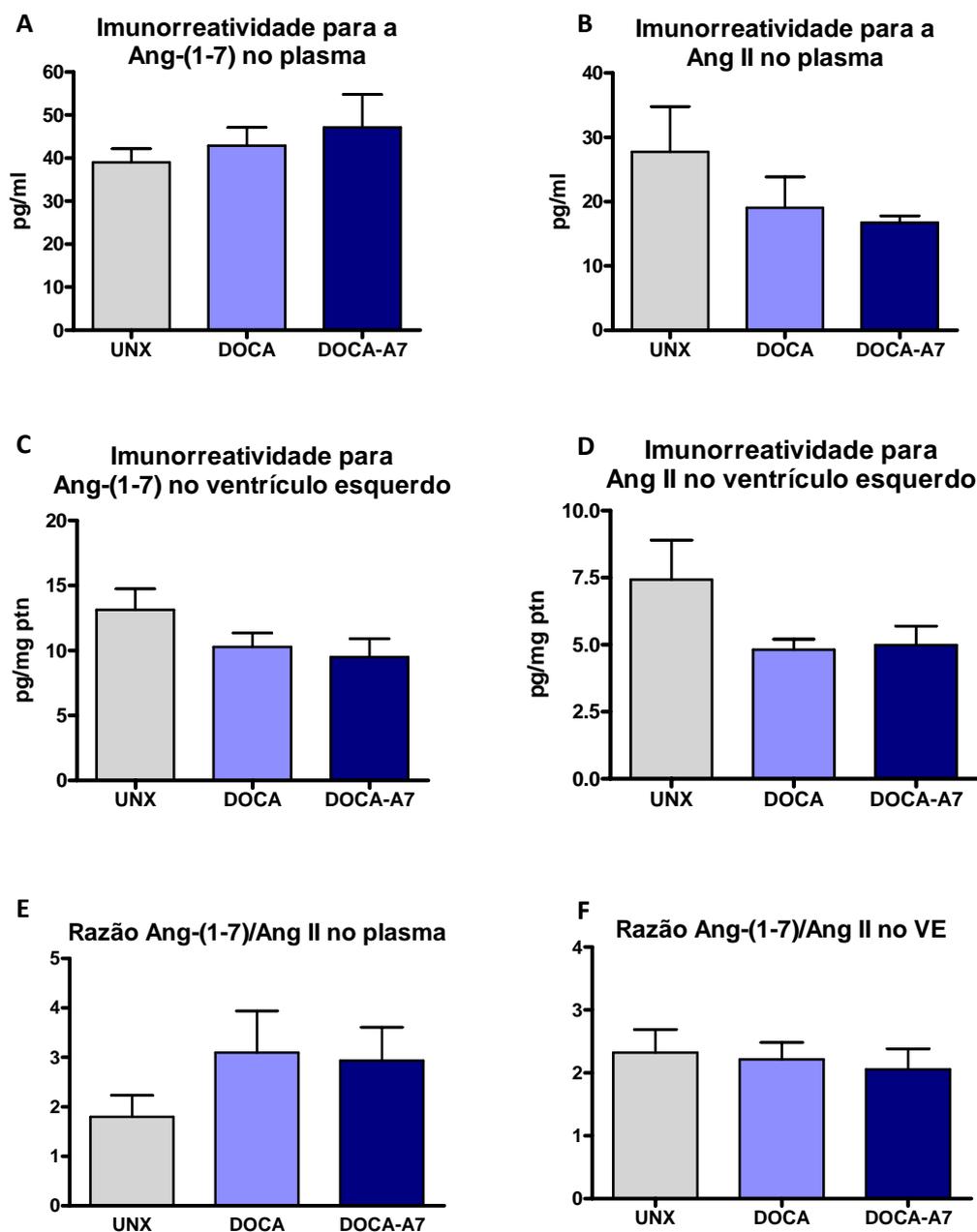


Figura 15. Imunorreatividade dos peptídeos Ang-(1-7) e Ang II (A e B) no plasma e no ventrículo esquerdo (C e D) de ratos submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal. Número de animais para os dados no plasma: UNX=5, DOCA=6, DOCA-A7=4; e no VE: UNX=14, DOCA=8, DOCA-A7=11. Em E e F estão apresentados a média da razão Ang-(1-7)/ Ang II calculada para cada grupo. Os valores estão expressos como média  $\pm$  EPM.

### 5.5. Efeito da infusão ICV crônica de Angiotensina-(1-7) sobre a expressão de *mRNA* para os Colágenos tipo I e III no ventrículo esquerdo de ratos submetidos ao modelo de hipertensão DOCA-sal.

A Tabela 11 e as Figuras 16 e 17 apresentam os resultados obtidos para a expressão do *mRNA* (U.A, unidades arbitrárias) para os colágenos tipo I e III no ventrículo esquerdo no 21º dia de hipertensão arterial DOCA-sal. Como pode ser observado, a hipertensão arterial aumentou em aproximadamente 13 vezes a expressão de *mRNA* para o colágeno I em relação ao grupo UNX,  $p < 0,05$ . Por outro lado, a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) reverteu o efeito da hipertensão DOCA-sal,  $p < 0,05$ ; sendo os valores deste grupo semelhantes aos do grupo UNX (Tabela 11 e Figura 16). Quanto à expressão de *mRNA* para o colágeno tipo III, foi interessante que, apesar de um aparente aumento em 3 vezes, não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 11 e Figura 17).

Tabela 11. Expressão de *mRNA* para os Colágenos tipo I e III no ventrículo esquerdo de ratos submetidos a 21 dias de hipertensão arterial DOCA-sal.

Grupo experimental	Colágeno I	Colágeno III
UNX	1,00 ± 0,62 (7)	1,00 ± 0,53 (7)
DOCA	12,99 ± 3,49 (10) *	3,00 ± 0,59 (8)
DOCA-A7	1,54 ± 0,67 (8) #	2,80 ± 0,84 (11)

Resultados corrigidos pela expressão do *mRNA* do controle endógeno S26. Os valores estão expressos como unidades arbitrárias. \*  $p < 0,05$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA.  
( ) número de animais

### Expressão de *mRNA* para Colágeno tipo I no ventrículo esquerdo

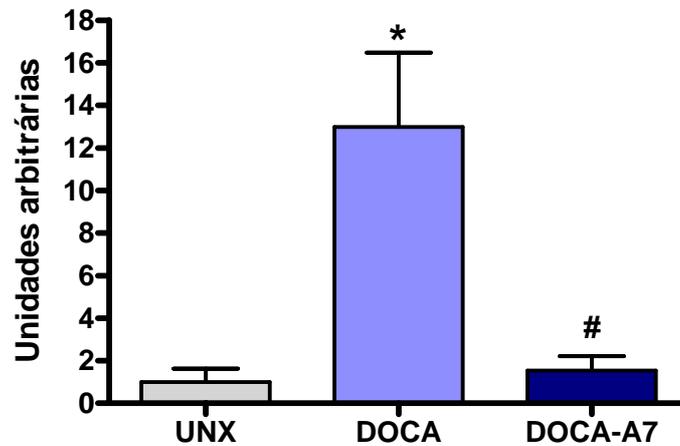


Figura 16. Expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I no ventrículo esquerdo de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=7; DOCA, n=10; DOCA-A7, n=8. Os valores estão expressos como unidades arbitrárias. \*  $p < 0,05$  vs UNX; #  $p < 0,05$  vs DOCA.

### Expressão de *mRNA* para o Colágeno tipo III no ventrículo esquerdo

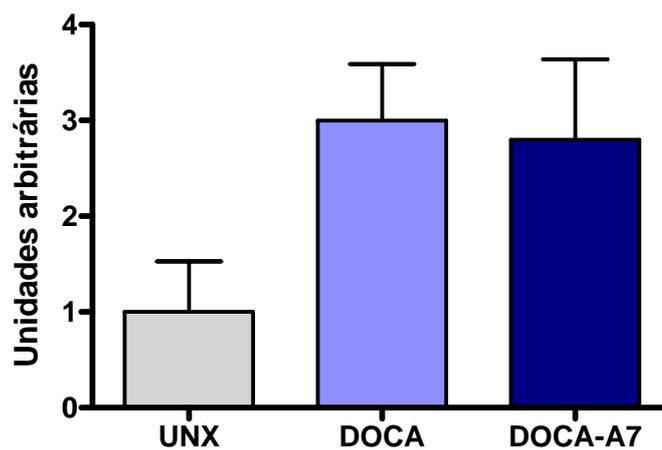


Figura 17. Expressão do *mRNA* para o colágeno tipo III no ventrículo esquerdo de ratos após 21 dias de indução da hipertensão arterial DOCA-sal. UNX, n=7; DOCA, n=8; DOCA-A7, n=11. Os valores estão expressos como unidades arbitrárias.

## 6. RESUMO DOS RESULTADOS

Este estudo mostra que o aumento nos níveis de Ang-(1-7) cerebral durante o desenvolvimento da hipertensão arterial DOCA-sal produz:

- 1) atenuação do nível de hipertensão arterial em ratos não-anestesiados;
- 2) redução do tônus simpático e aumento do tônus parassimpático ao coração;
- 3) melhora do controle barorreflexo da atividade simpática e da frequência cardíaca;
- 4) redução da expressão de *mRNA* para o colágeno I, o que reflete na atenuação do processo de remodelamento cardíaco decorrente da hipertensão arterial;
- 5) a ação da Ang-(1-7) cerebral sobre a expressão do *mRNA* para o colágeno I não é mediada por alterações nos níveis cardíacos e plasmáticos de Ang II e Ang-(1-7).

Em conjunto, estes resultados sugerem que alterações do SRA cerebral, a favor da síntese e ações da Ang-(1-7) possam contribuir de forma relevante para a atenuação da hipertensão arterial, principalmente, por melhorar o controle barorreflexo da pressão arterial e o tônus autonômico cardíaco. Estes efeitos contribuem também para a redução da expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I.

## 7. DISCUSSÃO

### 7.1. Considerações sobre o modelo de hipertensão arterial DOCA-sal e o SRA cerebral

Em nosso estudo, observamos que 3 (três) semanas de hipertensão arterial induzida pelo modelo DOCA-sal promoveu considerável aumento da PAM (~40%), acompanhado por alteração do tônus autonômico cardíaco, com aumento do tônus simpático e redução do tônus parassimpático. Além disso, foi observado um prejuízo do controle barorreflexo da FC e da atividade simpática renal, hipertrofia cardíaca e aumento da expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I no VE. Estes achados estão de acordo com a literatura no que diz respeito às alterações cardiovasculares observadas na hipertensão arterial e com o conceito da hiperatividade simpática como um mediador importante dos efeitos deletérios relacionados com esta enfermidade.

Vários estudos buscam compreender os mecanismos centrais relacionados com a fisiopatologia da hipertensão arterial. Um dos mecanismos mais bem estabelecido é o aumento da atividade do SRA cerebral favorecendo as ações da Ang II (KUBO *et al.*, 2000; PARK e LEENEN, 2001; ZUCKER, 2002; BENARROCH, 2005; GUYENET, 2006). Com relação ao modelo de hipertensão arterial DOCA-sal, estudos mostram uma maior expressão do receptor AT<sub>1</sub> em áreas cerebrais relacionadas ao controle cardiovascular, tais como: nTS, Área Postrema, Núcleo Pré-óptico Mediano, SFO e DMNV (GUTKIND *et al.*, 1988); além de níveis elevados de renina e Ang II em núcleos hipotalâmicos e do tronco encefálico, ao passo que a atividade da renina plasmática se mantém baixa (WEYHENMEYER e MEYER, 1985; BASSO *et al.*, 1981). Estudo recente mostrou também que a infusão ICV de aldosterona, um mineralocorticóide, aumenta a expressão de *mRNA* para o receptor AT<sub>1</sub> e ECA, a atividade neuronal e o estresse oxidativo no PVN, sugerindo

que o mineralocorticoide estimule diretamente a hiperatividade do SRA cerebral neste núcleo (ZHANG *et al.*, 2008).

O PVN é um importante centro integrador de respostas comportamentais, endócrinas e autonômicas para a manutenção da homeostase e para as respostas adaptativas frente a estressores internos e externos. Sabe-se que o efeito excitatório da Ang II no PVN se dá, tanto dos CVOs para este núcleo, via projeções diretas e indiretas (por interneurônios glutamatérgicos), como também de áreas cerebrais relacionadas com o controle cardiovascular, a citar: RVLM, nTS e núcleo parabraqueal (BENARROCH, 2005). No modelo DOCA-sal tanto o aumento da ingestão de sódio como a infusão subcutânea do mineralocorticoide são estímulos às ações da Ang II no PVN, e estas, por sua vez, induzem uma maior atividade de neurônios magnocelulares secretores de AVP e de neurônios simpato-excitatórios (ITAYA *et al.*, 1986; JANIÁK *et al.*, 1990; O'DONAUGHY e BROOKS, 2006).

A simpato-excitação induzida pelo PVN pode decorrer tanto de projeções diretas deste núcleo para neurônios pré-ganglionares simpáticos localizados na Coluna Intermediolateral (IML) ou para neurônios da RVLM e destes para a IML, sendo as projeções destinadas ao coração e rins, em sua maioria, diretas para a IML. As projeções excitatórias do PVN para a RVLM são mediadas principalmente pelo glutamato, AVP (via receptores  $V_1$ ) e Ang II (via receptor  $AT_1$ ). Além disso, estes neurônios do PVN recebem projeções inibitórias GABAérgicas oriundas das aferências dos barorreceptores e átrios. Sabe-se que a desativação dos barorreceptores e dos receptores atriais liberam tanto os neurônios magnocelulares secretores de AVP como os neurônios simpato-excitatórios do PVN de seu controle inibitório GABAérgico, colaborando para a maior liberação deste hormônio e maior simpato-excitação (BENARROCH, 2005). Resumindo, a estimulação sustentada do PVN e a redução do tônus inibitório sobre este núcleo, resultam em aumento

tônico da PAM, principalmente, pela maior secreção de AVP e simpato-excitação; esta, por sua vez, aumenta o tônus simpático cardíaco e renal, reduz o tônus parassimpático cardíaco, e conseqüentemente induz um aumento da FC basal e prejuízo do controle barorreflexo da FC e da atividade simpática.

Assim, com base na literatura, podemos sugerir que as alterações cardiovasculares encontradas neste estudo em função da hipertensão DOCA-sal originaram, principalmente, de uma hiperatividade simpática, possivelmente, mediada por ações excitatórias centrais diretas e indiretas da Ang II sobre o PVN e sobre núcleos bulbares relacionados ao controle autonômico e barorreflexo, e/ou também por ações da Ang II sobre as vias inibitórias centrais relacionadas, uma vez que a Ang II atenua diretamente a projeção GABAérgica sobre o PVN via produção de superóxido, ou seja, aumentando o estresse oxidativo celular (LI e PAN, 2005; CHEN e PAN, 2007).

## **7.2. Ang-(1-7) cerebral como um mediador da atenuação da hipertensão arterial**

Ao passo que muitos pesquisadores discutem a participação da Ang II cerebral na fisiopatologia da hipertensão arterial, a literatura dispõe de poucos estudos acerca das ações da Ang-(1-7) cerebral sobre a hipertensão. Apesar disso, estudos utilizando o tratamento com inibidores de ECA ou antagonistas de receptor AT<sub>1</sub> em animais hipertensos mostraram que parte dos efeitos benéficos destas drogas é mediada pela ação da Ang-(1-7) no SNC. Um estudo que suporta esta afirmativa é o de Britto e cols (1997), que mostrou que a melhora do controle barorreflexo da FC após o tratamento oral crônico com enalapril (inibidor de ECA) em ratos com hipertensão renovascular é bloqueada com a infusão ICV aguda de A779 (antagonista específico do receptor Mas). Resultados semelhantes também foram obtidos por Heringer-Whalter e cols (2001) utilizando o tratamento ICV com ramipril

(inibidor de ECA) e A779 em ratos SHR. Além disso, Chaves e cols (2000) mostraram que a microinjeção de Ang-(1-7) no nTS de ratos SHR possui um efeito depressor, bradicárdico e facilitatório sobre o controle barorreflexo da FC; enquanto o bloqueio do receptor Mas neste núcleo atenua o controle barorreflexo. Estas informações suportam a hipótese de que o aumento dos níveis centrais de Ang-(1-7) possa mediar a atenuação da hipertensão arterial.

Em nosso estudo, os animais que receberam infusão ICV crônica de Ang-(1-7) apresentaram atenuação dos níveis de hipertensão arterial (atenuação em 50%). Podemos sugerir que esta redução da PAM resultou, primariamente, de um efeito central deste peptídeo, uma vez que os níveis de Ang II e Ang-(1-7) no plasma e no VE destes animais não alteraram, quando comparados tanto com o grupo DOCA quanto o grupo controle (UNX). Os resultados de Grobe e cols (2006, 2007) também corroboram com esta hipótese, pois a infusão de Ang-(1-7), por via subcutânea, durante 28 dias, em animais DOCA-sal, não alterou a hipertensão arterial, mas melhorou o remodelamento cardíaco. Do mesmo modo, quando infundida concomitantemente com a Ang II, por 28 dias s.c, a Ang-(1-7) atenuou o remodelamento cardíaco sem alterar o efeito pressórico da Ang II. Podemos sugerir, ainda, que o menor aumento da PAM, em nosso estudo, está relacionado com a redução da simpato-excitação no SNC, uma vez que, observamos a normalização do tônus autonômico cardíaco e a completa preservação do controle barorreflexo da FC e do controle barorreflexo da atividade simpática renal.

Embora a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) tenha normalizado o tônus autonômico cardíaco e o controle barorreflexo, a PAM foi maior que os valores basais encontrados na normotensão. Sabe-se que o mineralocorticóide aumenta a expressão do *mRNA* para o receptor AT<sub>1</sub> e ECA no SNC e que a infusão ICV do antagonista de receptor AT<sub>1</sub> não impediu esta ação, o que sugere uma ação estimulatória direta do mineralocorticóide sobre o SRA cerebral (ZHANG *et al.*, 2008). Assim, podemos sugerir que a não normalização da

---

PAM derive de ações dos mineralocorticóides ou da ingestão elevada de sódio diretamente no SNC e/ou em tecidos periféricos, as quais não foram influenciadas pela infusão central de Ang-(1-7).

A completa preservação do controle barorreflexo da FC está de acordo com a literatura. Este é um efeito clássico da Ang-(1-7) tanto em animais normotensos (CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1992; BOMTEMPO *et al.*, 1998), quanto hipertensos (OLIVEIRA *et al.*; 1996; BRITTO *et al.*, 1997; HERINGER-WHALTER *et al.*, 2001). Com relação à preservação do controle barorreflexo da RSNA, este é um resultado novo na literatura, porém esperado em nosso estudo, uma vez que a RSNA está sob influencia dos barorreceptores (DiBONA, 2004; DAMPNEY *et al.*, 2005; OSBORN *et al.*, 2005). Apesar de existirem evidências para a participação da Ang-(1-7) na manutenção do tônus simpático renal e da PAM de animais normotensos e hipertensos (SILVA *et al.*, 1993; FONTES *et al.*, 1994; FONTES *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2005; ALZAMORA *et al.*, 2006), estes estudos foram realizados em áreas específicas isoladamente e, em nosso estudo, o efeito observado resulta da infusão ICV, de forma crônica (14 dias) e uniforme, o que permitiu que a resposta final fosse decorrente do balanço das ações da Ang-(1-7) em diferentes núcleos cerebrais.

Uma possibilidade interessante é que os efeitos da Ang-(1-7) no SNC durante o desenvolvimento da hipertensão estejam relacionados, principalmente, com a atividade de neurônios GABAérgicos. A ativação destes neurônios promove redução da simpato-excitação evocada pelo PVN (BENARROCH, 2005; LI e PAN, 2006; LI *et al.*, 2006) e, promove maior liberação de NO (LI *et al.*, 2002).

Estudos *in vitro* de Gironacci e cols (2000, 2004 a,b) mostraram que a Ang-(1-7), via receptor específico, reduz a liberação de NE no hipotálamo de ratos hipertensos (SHR e

coarctação de aorta) através da liberação de NO e bradicinina. Este grupo mostrou ainda que a Ang-(1-7) também impede a maior liberação de NE induzida pela Ang II em ratos hipertensos (coarctação de aorta).

Recentemente, estudo de nosso laboratório mostrou a presença do receptor Mas em áreas cerebrais relacionadas ao controle cardiovascular, tais como regiões bulbares (nTS, RVLM, CVLM, DMNV) e no hipotálamo (neurônios magno e parvocelulares do PVN, CVOs, SON), sugerindo estas áreas como sítios de ação da Ang-(1-7) (BECKER *et al.*, 2007). Nos núcleos bulbares foi verificada uma intensa co-localização deste receptor em neurônios GABAérgicos e, aparentemente em menor grau, em neurônios catecolaminérgicos (BECKER *et al.*, 2007). Estudos futuros serão necessários para se avaliar a localização do receptor Mas em neurônios hipotalâmicos. É possível que durante a hipertensão arterial, um dos principais neurônios ativados pela Ang-(1-7) foram os GABAérgicos, moduladores da atividade do PVN e dos núcleos bulbares relacionados ao controle cardiovascular. Não podemos descartar ainda, possíveis ações da Ang-(1-7) diretamente sobre os neurônios catecolaminérgicos, uma vez que também existe uma co-localização do receptor Mas nestes neurônios (BECKER *et al.*, 2007).

Outra possibilidade para explicar a redução do tônus simpático ao coração pode estar relacionada com os efeitos da Ang-(1-7) sobre o comportamento do animal. O receptor Mas está presente em áreas relacionadas com o comportamento de sede, como a área pré-óptica (BECKER *et al.*, 2007). Como este peptídeo estimula a liberação de NO (GIRONACCI *et al.*, 2000; ALBRECHT, 2007) e é proposto que o NO dentro do SNC também possua efeitos anti-dipsogênicos (CALAPAI *et al.*, 1992), podemos sugerir que a Ang-(1-7) estimule tais efeitos do NO. Outra evidência da participação da Ang-(1-7) no comportamento do animal provém de estudos com camundongos knockout para o receptor Mas; estes animais apresentam distúrbios comportamentais, como maior ansiedade e piora

---

no aprendizado (WALTHER *et al.*, 1998), além de apresentarem prejuízos na função cardiovascular (CASTRO *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2006) e alterações no controle das repostas cardiovasculares reflexas, como atenuação da bradicardia e facilitação da taquicardia barorreflexa (MOURA, 2007).

Atualmente, é bem aceito o conceito de que os circuitos neuronais que regulam a atividade autonômica no SNC modulam de forma diferenciada o tônus simpático para os diferentes órgãos-alvo, produzindo descargas simpáticas eferentes heterogêneas, ou seja, de intensidade não uniforme (MORRISON, 2001). Assim, podemos sugerir que, em nosso estudo, a intensidade do tônus simpático destinado ao coração pode ter diferido da intensidade do tônus simpático destinado ao rim, uma vez que não observamos alteração da RSNA basal, enquanto houve significativo aumento do tônus simpático cardíaco nos ratos hipertensos DOCA em relação aos UNX. É possível que a alteração no tônus simpático cardíaco seja mais precoce que a no nervo renal, embora tenhamos observado alterações barorreflexas semelhantes para a FC e RSNA. Interessantemente, em ratos SHRSP não anestesiados também não foi observado alteração da RSNA basal (HUANG *et al.*, 2006); mas possivelmente, se o tempo de hipertensão DOCA-sal fosse estendido, observaríamos um aumento desta variável nos animais hipertensos, uma vez que, cronicamente, a hiperatividade da Ang II no SNC promove maior simpato-excitação renal (ZUCKER, 2002; DiBONA, 2004).

Devemos ressaltar que uma limitação importante está relacionada com a metodologia de análise da RSNA basal, pois não é qualitativa. Avaliamos apenas o número de spikes por segundo, o que não permite caracterizar a heterogeneidade da descarga simpática para os diferentes grupos experimentais. É sugerido que o padrão de descarga do nervo simpático renal codifique uma informação diferente de acordo com a sua variação, que envolve: amplitude, frequência, duração e regularidade (DiBONA, 2000). Assim, apesar

do número de spikes por segundo ter sido semelhante para todos os grupos, não podemos afirmar que o padrão de descarga dos mesmos foi semelhante. Além disso, é sugerido que, a partir do nervo renal, diferentes grupos de fibras eferentes sejam destinados seletivamente para as arteríolas renais, túbulos ou células justaglomerulares; portanto, como o registro foi realizado no nervo como um todo, não podemos afirmar que a resposta evocada foi semelhante para os diferentes grupos estudados.

Outro aspecto importante é que o registro da RSNA foi realizado nos animais anestesiados, nos quais os ratos DOCA e DOCA-A7 apresentaram bradicardia e atenuação da hipertensão arterial. É possível que esses efeitos estejam relacionados à sensibilidade de áreas centrais relacionadas ao controle da atividade simpática aos anestésicos, de modo que os animais hipertensos sejam mais sensíveis aos efeitos do anestésico, e a redução da FC pode ter contribuído para atenuar a hipertensão arterial dos ratos DOCA.

Nos animais do grupo DOCA observamos uma atenuação do controle barorreflexo da atividade simpática para o nervo renal. Estudo de Barrett e cols (2005) mostrou uma importante relação entre a integridade das aferências sino-aórticas e a resposta reflexa da RSNA durante a hipertensão induzida por infusão de Ang II. O mecanismo reflexo da RSNA frente a aumentos de PAM é de uma simpato-inibição, com intuito de aumentar a excreção de sódio e suprimir a liberação de renina. Quando há uma perda na função dos barorreceptores, a resposta reflexa da RSNA é prejudicada (DiBONA, 2004). Assim, era esperado que a redução do controle barorreflexo da FC nos animais DOCA, fosse acompanhada de atenuação do controle barorreflexo da RSNA. Possivelmente, estes animais estejam retendo maior quantidade de sódio, o que colabora para o maior aumento da PAM encontrada nestes animais.

Por outro lado, observamos uma melhora significativa do controle barorreflexo da RSNA nos animais que receberam infusão ICV crônica de Ang-(1-7). Não há na literatura estudos que relacionam o controle barorreflexo da RSNA e a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) durante a hipertensão. Porém, seguindo o proposto por DiBONA (2004) quanto à relação do barorreceptor arterial e o controle barorreflexo da RSNA, o resultado encontrado em nosso estudo é coerente, uma vez que estes animais apresentaram uma normalização do tônus autonômico e do controle barorreflexo da FC. Possivelmente, o melhor controle barorreflexo da RSNA esteja colaborando para uma melhor excreção urinária de sódio, que por sua vez contribui para atenuar a hipertensão arterial.

A hipertrofia renal foi estimada pelo peso do rim remanescente. O peso deste não foi diferente entre os animais hipertensos, no entanto ambos os grupos apresentaram uma hipertrofia maior (~ 34%) quando comparados aos UNX. Esta medida não nos informa acerca da excreção de sódio, mas sugere um efeito direto do mineralocorticóide, da elevada ingestão de sódio e da redução da massa renal sobre a hipertrofia renal, resultado que está de acordo com a literatura (WANG *et al.*, 2002). Embora a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) não tenha alterado este parâmetro, estudo sobre os aspectos funcionais do rim dos animais hipertensos auxiliaria na compreensão dos achados referentes ao controle barorreflexo da RSNA. Esta análise contribuiria para estabelecer a participação dos barorreceptores arteriais no controle a longo prazo da PAM, modulando a RSNA e, conseqüentemente, a excreção de sódio. Esta é uma questão ainda não esclarecida na literatura, mas há estudos que mostram que após a desnervação sino-aórtica e elevada ingestão de sódio ocorre um aumento da PAM associado ao aumento da retenção de sódio (HOWE *et al.*, 1985; OSBORN e HORNFELDT, 1998; DiBONA, 2002).

Apesar de não termos avaliado a reatividade vascular e nem dosado a NE plasmática, não podemos excluir possíveis ações da Ang-(1-7) destinadas à redução da

simpato-excitação para os vasos e para a adrenal, o que também colaboraria para a redução da PAM. É sabido que os mineralocorticóides aumentam a resistência vascular em humanos (SCHMIDT *et al.*, 1999; WEHLING *et al.*, 1998), bem como promove vasoconstricção em arteríolas coronarianas em coração isolado de ratos, por estimular a atividade do receptor AT<sub>1</sub> e aumentar o estresse oxidativo (KUSHIBIKI *et al.*, 2007). Assim, do mesmo modo que a Ang-(1-7) normalizou o tônus autonômico para o coração, melhorou o controle barorreflexo da FC e da RSNA, podemos sugerir que este peptídeo também possa ter contribuído para uma menor simpato-excitação vascular, bem como para o melhor controle barorreflexo da atividade simpática lombar, resultando numa menor resistência periférica total e menor secreção de NE.

Por outro lado, nos experimentos com animais não-anestesiados, observamos que não houve diferença para a FC basal em função da hipertensão DOCA-sal, resultado que está de acordo com a literatura (O'DONAUGHY e BROOKS, 2006; PARK e LEENEN, 2001). Não houve também alteração da FC com a infusão ICV crônica de Ang-(1-7). Resultados de Campagnole-Santos e cols (1992) mostraram que a infusão aguda (3h) de Ang-(1-7) também não produziu alterações na FC basal. No entanto, deve-se ressaltar que a ausência da alteração na FC basal não significa que a função cardíaca permaneceu inalterada, pois os animais que receberam infusão ICV crônica de Ang-(1-7) apresentaram atenuação da hipertensão arterial, correção do tônus autonômico e preservação do controle barorreflexo da FC. Estas alterações sugerem que a Ang-(1-7), via modulação autonômica, possa ter influenciado no processo adaptativo do coração frente ao desenvolvimento da hipertensão arterial.

Sabe-se que durante a hipertensão arterial, as alterações neurais, mecânicas e hemodinâmicas impostas ao coração alteram o seu arranjo tecidual e seu funcionamento. Esta alteração envolve a migração de células inflamatórias, estresse oxidativo, alterações

---

eletrofisiológicas, hipertrofia celular e aumento da deposição dos colágenos tipo I, III, IV e fibronectina no espaço intersticial e perivascular, principalmente no VE, mas também no VD (BRILLA *et al.*, 1990; WEBER e BRILLA, 1991; MORGAN e BAKER, 1991; ROBERT *et al.* 1994; DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002).

Estudos avaliando as alterações eletrofisiológicas cardíacas mostraram que os mineralocorticóides possuem efeitos arritmogênicos e estimulam a expressão de canais de cálcio tipo – L, aumentando a corrente despolarizante induzida por eles (DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002). Em nosso estudo, através de bloqueios farmacológicos avaliamos a FC intrínseca, que permite uma estimativa da atividade do marcapasso cardíaco. Nesta análise, mostramos que a hipertensão arterial DOCA-sal reduziu a FC intrínseca e esta alteração não foi modificada pela infusão ICV de Ang-(1-7). Estes dados sugerem que a alteração na frequência de disparo do marcapasso esteja relacionada a um efeito direto do mineralocorticóide sobre a célula marcapasso e independe da alteração Ang-(1-7). Se este efeito está relacionado com a densidade de canais de Ca<sup>++</sup> do tipo L ou com outro efeito, ainda está por ser determinado.

Um resultado intrigante é que, em nosso estudo, não observamos redução significativa dos níveis de Ang II plasmática nos ratos DOCA. Já está bem estabelecido que no modelo de hipertensão DOCA-sal ocorre inibição da liberação de renina com conseqüente redução do nível circulante dos peptídeos angiotensinérgicos (ITAYA *et al.*, 1986; SCHENK e McNIELL, 1992). Se este resultado está relacionado a interferências indesejáveis (não previstas) no método de determinação dos níveis dos peptídeos, ou com o tempo de duração da hipertensão arterial, ou outro fator ainda deverá ser avaliado

Por outro lado, nosso estudo mostrou que a hipertensão DOCA-sal induziu um aumento de 13 vezes na expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I no VE, ao passo que

não houve aumento significativo na expressão do *mRNA* para o colágeno tipo III. Sabe-se que o colágeno tipo I é o mais abundante no miocárdio, correspondendo aproximadamente 75% do total de colágeno presente neste (MEDUGORAC, 1980; WEBER e BRILLA, 1991; de SOUZA, 2002), o que poderia explicar a magnitude da alteração observada. É possível também que o tempo de hipertensão tenha contribuído para as alterações encontradas. Sabe-se que o aumento na deposição do colágeno tipo III ocorre, em geral, na fase inicial da hipertensão, e mais tardiamente, ocorre a do colágeno I (WEBER *et al.*, 1988). Devemos ressaltar ainda que, embora exista na maioria das vezes uma boa correlação entre a variação da expressão de *mRNA* e da respectiva proteína, não podemos descartar a possibilidade de que os níveis de colágeno I não tenham alterado como ocorreu para o seu respectivo *mRNA* (CHAPMAN *et al.*, 1990).

Apesar de não termos encontrado alteração no peso do VD, estudos na literatura sugerem que o processo fibrótico possa ocorrer neste tecido mesmo na ausência de uma sobrecarga de volume (BRILLA *et al.*, 1990; DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002). Uma análise morfológica ou molecular ajudaria a esclarecer a existência ou não de fibrose no VD em nosso estudo. Além disso, não houve alteração da razão do LPE úmido/ seco, que é uma estimativa da existência de edema pulmonar. A ausência de alteração no peso do VD e na razão LPE úmido/ seco sugerem que os animais DOCA ainda estão na fase de hipertrofia cardíaca sem prejuízo da função sistólica, ou seja, na fase compensada da hipertensão arterial.

Além da sobrecarga pressórica, a ação direta dos mineralocorticóides sobre o coração induz o aumento na deposição de colágenos. Os mineralocorticóides possuem receptores específicos no coração, predominantemente em miócitos e células endoteliais (LOMBÈS *et al.*, 1992), porém os mecanismos intracelulares pelos quais estimulam a deposição de colágeno ainda não foram completamente elucidados. Sabe-se que os

mineralocorticóides estimulam a síntese e intensificam as ações fibróticas do receptor AT<sub>1</sub>, da ECA e do receptor de endotelina-1 (ROBERT *et al.*, 1999; DELCAYRE e SWYNGHEDAUW, 2002). Como o modelo DOCA-sal é conhecido como um modelo de hipertensão neurogênica, além da ação direta do mineralocorticóide sobre o remodelamento cardíaco, possivelmente, a exacerbada simpato-excitação sobre a atividade cardíaca, mediada pelos efeitos centrais do mineralocorticóide, aumente a deposição de colágeno no coração. Em nosso estudo, não observamos diferença nos níveis de Ang II e Ang-(1-7) no VE dos animais DOCA em relação ao UNX, mas isso não descarta a possibilidade de uma hiperatividade do SRA cardíaco, uma vez que a expressão do receptor AT<sub>1</sub> no VE pode estar alterada, o que não foi avaliado em nosso estudo.

Interessantemente, nossos resultados mostraram que a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) impediu o aumento da expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I, sem interferir na expressão do *mRNA* para o colágeno tipo III. Muito provavelmente a redução da expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I nos ratos DOCA-A7 esteja relacionada à normalização do tônus autonômico, principalmente pelo aumento do tônus vagal. Estudo de Uemura e cols (2007) reforça esta hipótese. Estes autores mostraram aumento nos níveis da proteína inibidora de metaloproteinase 1 (TIMP-1) e redução da metaloproteinase 9 (MMP-9) ativas no miocárdio após estimulação da eferência do nervo vago em modelo de isquemia-reperfusão. Além disso, a acetilcolina aumenta a produção de NO pelos cardiomiócitos (DEDKOVA *et al.*, 2003) e o NO induz a expressão gênica da TIMP-1 pela ativação da via de sinalização fator transformador de crescimento- $\beta$ / Smad (AKOOL *et al.*, 2005).

Por outro lado, a normalização do tônus simpático também pode ter contribuído para reduzir a expressão de *mRNA* para o colágeno tipo I. Sabe-se que o aumento sustentado da atividade simpática para diferentes leitões, os elevados níveis de norepinefrina e a redução da variabilidade da frequência cardíaca, estão associados com a hipertrofia e

remodelamento do ventrículo esquerdo, com a maior ocorrência de arritmias e maior índice de mortalidade (MORGAN e BAKER, 1991; KASAMA *et al.*, 2007; HORWICH e MIDDLEKAUFF, 2008). Estudos clínicos recentes mostram uma relação direta entre disfunção autonômica cardíaca e o remodelamento expansivo da artéria coronariana (MANFRINI *et al.*, 2008), e uma atenuação no remodelamento do ventrículo esquerdo de pacientes com disfunção sistólica assintomática após o tratamento com o  $\beta$ -bloqueador, Metoprolol (COLUCCI *et al.*, 2007). Além disso, também já foi mostrado que a hiperativação simpática pode desencadear o remodelamento da matriz extracelular e fibrose intersticial por induzir a atividade de MMP (SEELAND *et al.*, 2007), ou, possivelmente por um mecanismo de trans-regulação entre as vias adrenérgica e a dos mineralocorticóides ao nível nuclear, estimulando a ativação de genes pró-fibróticos (BOS *et al.*, 2005).

Em nosso estudo, a infusão central de Ang-(1-7) não alterou a expressão do *mRNA* para o colágeno tipo III. Mas, os efeitos induzidos pela Ang-(1-7) no SNC que resultaram em atenuação da pressão arterial, preservação do controle barorreflexo e do tônus autonômico cardíaco contribuíram para a redução da expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I no VE. Além disso, podemos sugerir que mesmo sem a redução de peso do VE nos ratos DOCA-A7 em relação aos ratos DOCA, a hipertrofia cardíaca dos primeiros também possa estar diferenciada, colaborando para a redução da hipertensão arterial. Outro aspecto interessante do nosso estudo, é que as alterações observadas quanto a expressão do *mRNA* para os colágenos parecem ter sido independentes de modificações nos níveis dos peptídeos angiotensinérgicos no VE.

Os resultados do presente estudo mostraram que a infusão ICV crônica de Ang-(1-7) atenua o desenvolvimento da hipertensão arterial DOCA-sal, possivelmente por restabelecer o controle barorreflexo da FC e da atividade simpática e, conseqüentemente, o tônus autonômico para coração, rins e vasos. Além disso, a normalização do tônus autonômico cardíaco, em função da infusão ICV crônica de Ang-(1-7) impediu o aumento na expressão do *mRNA* para o colágeno tipo I, reforçando o papel da Ang-(1-7) cerebral para o controle da pressão arterial. Este estudo mostra que estratégias farmacológicas que aumentem os níveis cerebrais de Ang-(1-7), ou do eixo ECA2 - Ang-(1-7) - Mas, devem ser consideradas para o tratamento da hipertensão arterial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKOOL, EL-S.; DOLLER, A.; MULLER, R.; GUTWEIN, P.; XIN, C.; HUWILER, A.; PFEILSCHIFTER, J.; EBERHARDT, W. Nitric oxide induces TIMP-1 expression by activating the transforming growth factor beta-Smad signaling pathway. *J Biol Chem.* 280: 39403-39416, 2005.

ALBRECHT, D. Angiotensin-(1-7)-induced plasticity changes in the lateral amygdale are mediated by COX-2 and NO. *Learning & Memory.* 14: 177-184, 2007.

ALZAMORA, A.C.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Baroreflex modulation by angiotensins at the rat rostral and caudal ventrolateral medulla. *Am J Physiol Regul Integrative Comp Physiol.* 290:R1027-R1034, 2006.

AMBÜHL, P.; FELIX, D.; IMBODEN, H.; KHOSLA, M.C.; FERRARIO, C.M. Effects of angiotensin analogues and angiotensin receptor antagonists on paraventricular neurones. *Regul Pept.* 38(2): 111-120, 1992.

ARDAILLOU, R. Active fragments of angiotensin II: enzymatic pathways of synthesis and biological effects. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 6 (1): 28-34, 1997.

AVERILL, D.; DIZ, D. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: Pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Research Bulletin.* 51(2):119-128, 2000.

BADER, M.; PETERS, J.; BALTATU, O.; MÜLLER, D.N.; LUFT, F.C.; GANTEN, D. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. *J Mol Med.* 79: 76-102, 2001.

BALTATU, O.; SILVA J.A.; GANTEN, D.; BADER, M. The brain renin-angiotensin system modulates angiotensin II-induced hypertension and cardiac hypertrophy. *Hypertension.* 35 [part 2]: 409-412, 2000.

BARRETT, C.J.; GUILD, S-J.; RAMCHANDRA, R.; MALPAS, S.C. Baroreceptor denervation prevents sympathoinhibition during angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension.* 46: 168-172, 2005.

BARRETT, C.J.; RAMCHANDRA, R.; GUILD, S-J., LALA, A.; BUDGETT, D.M.; MALPAS, S.C. What sets the long-term level of renal sympathetic nerve activity: a role of angiotensin II and baroreflexes. *Circ Res.* 92: 1330-1336, 2003.

BASSO, N.; RUIZ, P.; MANGIARUA, E.; TAQUINI, A.C. Renin-like activity in the rat brain during the development of DOC-salt hypertension. *Hypertension.* 3 (suppl II): II14-17, 1981.

BAUM T. Vascular reactivity of reserpine-pretreated dogs. *J Pharmacol Exp Ther.* 141: 30-35, 1963.

- BECKER, L.K.; ETELVINO, G.M.; WALTHER, T.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Immunofluorescence localization of the receptor Mas in cardiovascular-related areas of the rat brain. *Am J Physiol Heart Ciri Physiol.* 293: H1416-H1424, 2007.
- BENARROCH, E.E. Paraventricular nucleus, stress response and cardiovascular disease. *Clin Auton Res.* 15: 254-263, 2005.
- BENETATO, G.; HAULICA, I.; ULUITU, M.; BABUIANU, E.; MOCODEAN, J.; STEFASCU, P.; SUHACIU, G. The central nervous action of angiotensin on aldosterone secretion and electrolytic balance. *Neuropharmacol.* 3: 565-570, 1964.
- BERECEK, K.H.; KIRK, K.A.; NAGAHAMA, S.; OPARIL, S. Sympathetic function in spontaneously hypertensive rats after chronic administration of captopril. *Am J Physiol.* 252: H796-H806, 1987.
- BICKERTON, R.K.; BUCKLEY, J.P. Evidence for central mechanism in angiotensin-induced hypertension. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 106: 834-836, 1961.
- BLOCK, C.H.; SANTOS, R.A.S.; BROSNIHAN, K.B.; FERRARIO, C.M. Immunocytochemical localization of angiotensin-(1-7) in the rat forebrain. *Peptides.* 9: 1395-1401, 1988.
- BOMTEMPO, C.A.S.; SANTOS, G.F.P.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Interaction of bradykinin and angiotensin-(1-7) in the central modulation of the baroreflex control of heart rate. *J Hypertens.* 16: 1797-1804, 1998.
- BOS, R.; MOUGENOT, N.; FINDJI, L.; MÉDIANI, O.; VANHOUTTE, P.M.; LECHAT, P. Inhibition of catecholamine-induced cardiac fibrosis by an aldosterone antagonist. *J Cardiovasc Pharmacol.* 45(1): 8-13, 2005.
- BOTELHO, L.M.O.; BLOCK, C.H.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A.S. Plasma angiotensin-(1-7) immunoreactivity is increased by salt load, water deprivation, and hemorrhage. *Peptides.* 15(4): 723-729, 1994.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254, 1976.
- BRILLA, C.G. Aldosterone and myocardial fibrosis in heart failure. *Herz.* 25(3): 299-306, 2000.
- BRILLA, C.G.; PICK, R.; TAN, L.B.; JANICKI, J.S.; WEBER, K.T. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circulation Research.* 67: 1355-1364, 1990.
- BRILLA, C.G.; ZHOU, G.; MATSUBARA, L.; WEBER, K.T. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol.* 26(7): 809-820, 1994.

- BRITTO, R.R.; SANTOS, R.A.S.; FAGUNDES-MOURA, C.R.; KHOSLA, M.C.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Role of Angiotensin-(1-7) in the Modulation of the baroreflex in renovascular hypertensive rats. *Hypertension*. 30[2]:549-556, 1997.
- BUNNEMANN, B.; FUXE, K.; METZGER, R.; MULLINS, J.; JACKSON, T.R.; HANLEY, M.R.; GANTEN, D. Autoradiographic localization of mas protooncogene mRNA in adult rat brain using in situ hybridization. *Neurosci. Lett*. 114: 147-153, 1990.
- CALAPAI, G.; SQUADRITO, F.; ALTAVILLA, D.; ZINGARELLI, B.; CAMPO, G.M.; CILIA, M.; CAPUTI, A.P. Evidence that nitric oxide modulates drinking behaviour. *Neuropharmacology*. 31(8):761-764, 1992.
- CALIGIORNE, S.M.; SILVA, A.Q.G.; FONTES, M.A.P.; SILVA, J.R.; BALTATU, O.; BADER, M.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in rats with low brain angiotensinogen. *Neuropeptides*. 42: 159-168, 2008.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; DIZ, D.I.; FERRARIO, C.M. Baroreceptor reflex modulation by angiotensin ii at the nucleus tractus solitarii. *Hypertension*. 11(Suppl I):1167-1171, 1988.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; DIZ, D.I.; SANTOS, R.A.S.; KHOSLA, M.C.; FERRARIO, C.M. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7) microinjected into the dorsal medial medulla. *Am J Physiol*. 257: H324-H329, 1989.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; HAIBARA, A.S. Reflexos Cardiovasculares e hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão*, 8(1):30-40, 2001.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; HERINGER, S.B.; BATISTA, E.N.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A.S. Differential baroreceptor reflex modulation by central infused angiotensin peptides. *Am J Physiol*. 263(1):R89-94, 1992.
- CAMPBELL, D.J. ALEXIOU, T. XIAO, H.D.; FUCHS, S.; MCKINDLEY, M.J.; CORVOL, P.; BERNSTEIN, K.E. Effect of reduced angiotensin-converting enzyme gene expression and angiotensin-converting enzyme inhibition on angiotensin and bradykinin peptide levels in mice. *Hypertension*. 43:854-859, 2004.
- CASTO, R.; PHILLIPS, M.I. Neuropeptide action in nucleus tractus solitarii: angiotensin specificity and hypertensive rats. *Am J Physiol*. 249: R341-R347, 1985.
- CASTRO, C.H.; SANTOS, R.A.S.; FERREIRA, A.J.; BADER, M.; ALENINA, N.; ALMEIDA, A.P. Effects of genetic deletion of angiotensin-(1-7) receptor Mas on cardiac function during ischemia/reperfusion in the isolated perfused mouse heart. *Life Sci*. 80(3):264-268, 2006.
- CHAPMAN, D.; WEBER, K.T.; EGHBALI, M. Regulation of fibrillar collagen types I and III and basement membrane type IV collagen gene expression in pressure overloaded rat myocardium. *Circ Res*. 67: 787-794, 1990.
- CHAPPELL, M.C.; PIRRO, N.T.; SYKES, A.; FERRARIO, C.M. Metabolism of angiotensin-(1-7) by angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*. 31: 362-367, 1998.

- CHAPPELL, M.C.; TALLANT, E.A.; BROSNIHAN, K.B.; FERRARIO, C.M. Processing of angiotensin peptides by NG180-15 neuroblastoma x glioma hybrid cell line. *Peptides*. 22: 375-280, 1990.
- CHAVES, G.Z.; CALIGIORNE, S.M.; SANTOS, R.A.S.; KHOSLA, M.C.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Modulation of the baroreflexo control of heart rate by angiotensin-(1-7) at the nucleus tractus solitarii of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertension*. 18:1841-1848, 2000.
- CHEN, M.; LEE, J.; MALVIN, R.L. Central administration of aldosterone increases blood pressure in rats. *Clin Exp Hypertens*. 11(pt A): 459-472, 1989.
- CHEN, Q.; PAN H-L. Signaling Mechanisms of angiotensin II-induced attenuation of gabaergic input to hypothalamic presympathetic neurons. *J Neurophysiol*. 97: 3279-3287, 2007.
- CRACKOWER, M.A.; SARAO, R.; OUDIT, G.Y.; YAGIL, C.; KOZIERADZKI, I.; SCANGA, S.E.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A.J.; DA COSTA, J.; ZHANG, L.; PEI, Y.; SCHOLEY, J.; FERRARIO, C.M.; MANOUKIAN, A.S.; CHAPPELL, M.C.; BACKX, P.H.; YAGIL, Y.; PENNINGER, J.M. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature*. 417: 822-828, 2002.
- COLUCCI, W.S.; KOLIAS, T.J.; ADAMS, K.F.; ARMSTRONG, W.F.; GHALI, J.K.; GOTTLIEB, S.S.; GREENBERG, B.; KLIBANER, M.I.; KUKIN, M.L.; SUGG, J.E. Metoprolol reverses left ventricular remodeling in patients with asymptomatic systolic dysfunction: the REversal of VEentricular Remodeling with Toprol-XL (REVERT) trial. *Circulation*. 116(1):49-56, 2007.
- CULMAN, J.; HOHLE, S.; QADRI F.; EDLING, O.; BLUME, A.; LEBRUN, C.; UNGER, T. Angiotensin as neuromodulator/neurotransmitter in central control of body fluid and electrolyte homeostasis. *Clin Exp Hypertens*. 17: 281-293, 1995.
- DAMPNEY, R.A.L. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev*. 74:323-364, 1994.
- DAMPNEY, R.A.L.; HORIUCHI, J.; KILLINGER, S.; SHERIJJ, M.J.; TAN, P.S.P.; MCDOWALL, L.M. Long-term regulation of arterial blood pressure by hypothalamic nuclei: some critical questions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 32: 419-425, 2005.
- De NICOLA AF, SELTZER A, TSUTSUMI K, SAAVEDRA JM. Effects of deoxycorticosterone acetate (DOCA) and aldosterone on Sar1-angiotensin II binding and angiotensin-converting enzyme binding sites in brain. *Cell Mol Neurobiol*.13(5):529-539, 1993.
- De SOUZA R.R. Aging of myocardial collagen. *Biogerontology*. 3(6):325-335, 2002.
- DEDDISH, P.A.; MARCIC, B.; JACKMAN, H.L.; WANG, H.Z.; SKIDGEL, A.R.; ERDOS, E.G. N-domin specific substrate and c-domin inhibition of angiotensin-converting enzyme: angiotensin-(1-7) and keto-ACE. *Hypertension*. 31: 912-917, 1998.

- DEDKOVA, E.N.; JI, X.; WANG, Y.G.; BLATTER, L.A.; LIPSIUS, S.L. Signaling mechanisms that mediate nitric oxide production induced by acetylcholine exposure and withdrawal in cat atrial myocytes. *Circ Res.* 93(12):1233-1240, 2003.
- DELCAIRE, C.; SWYNGHEDAUW, B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. The role of aldosterone. *J Mol Cell Cardiol.* 34: 1577-1584, 2002
- DiBONA, G.F. Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. *Am J Physiol Integrative Comp Physiol.* 279: R1517-1524, 2000.
- DiBONA, G.F. The sympathetic nervous system and hypertension: recent developments. *Hypertension.* 43: 147-150, 2004.
- DiBONA, G.F.; SAWIN, L.L. Effect of arterial baroreceptor denervation on sodium balance. *Hypertension.* 40: 547-551, 2002.
- DIZ, D.I.; JESSUP, J.A.; WESTWOOD, B.M.; BOSCH, S.M.; VINSANT, S.; GALLAGHER, P.E.; AVERILL, D.B. Angiotensin peptides as neurotransmitters/neuromodulators in the dorsomedial medulla. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* 29:473-482, 2002.
- DONOGHUE, M.; HSIEH, F.; BARONAS, E.; GODBOUT, K.; GOSSELIN, M.; STAGLIANO N.; DONOVAN, M.; WOOLF, B.; ROBISON, K.; JEYASEELAN, R.; BREITBART, R.E.; ACTON, S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ. Res.* 87:E1-E9, 2000.
- DZAU, V.J.; BURT, D.W.; PARTT, R.E. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol.* 255 (4 Pt 2): F563-573, 1988.
- EPSTEIN, A.N.; FITZSIMONS, J.T.; ROLLS, B.J. Drinking induced by injection of angiotensin into the brain of the rat. *Journal of Physiology.* 210: 457-474, 1970.
- FINK, G.D.; JOHNSON, R.J.; GALLIGAN, J.J. Mechanisms of increased venous smooth muscle tone in desoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Hypertension.* 35 [2]: 464-469, 2000.
- FONTES, M.A.P.; MARTINS PINGE, M.C.; NAVES, V.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; LOPES, O.U.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A.S. Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensins and angiotensins antagonists into the ventrolateral medulla of freely moving rats. *Brain Res.* 750 (1-2): 305-310, 1997.
- FONTES, M.A.P.; SILVA, L.C.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; KHOSLA, M.C.; GUERTZENSTEIN, P.G.; SANTOS, R.A.S. Evidence that angiotensin-(1-7) plays a role in the central control of blood pressure at the ventro-lateral medulla acting through specific receptor. *Brain Res.* 665(1):175-80, 1994.
- GANTEN, D.; MINNICH, J.L.; GRANGER, P. Angiotensin-forming enzyme in brain tissue. *Science.* 173: 64-65, 1971.

- GIRONACCI, M.M.; VALERA, M.S.; YUJNOVSKY, I.; PEÑA, C. Angiotensin-(1-7) inhibitory mechanism of norepinephrine release in hypertensive rats. *Hypertension*. 44: 738-787, 2004a.
- GIRONACCI, M.M.; VATTA, M.; RODRIGUEZ-FERMEPÍN, M.; FERNÁNDEZ, B.E.; PEÑA, C. Angiotensin-(1-7) reduces norepinephrine release through a nitric oxide mechanism in rat hypothalamus. *Hypertension*. 35: 1248-1252, 2000.
- GIRONACCI, M.M.; YUJNOVSKY, I.; GORZALCZANY, S.; TAIRA, C.; PEÑA, C. Angiotensin-(1-7) inhibits the angiotensin II-enhanced norepinephrine release in coarcted hypertensive rats. *Regulatory Peptides*. 118: 45-49, 2004b.
- GÓMEZ-SANCHEZ, E.P. Dose-response studies of intracerebroventricular infusion of aldosterone in sensitized and non-sensitized rats. *J Hypertens*. 6: 437-442, 1988.
- GÓMEZ-SANCHEZ, E.P.; FORT, C.M.; GÓMEZ SANCHEZ, M.J. Intracerebroventricular infusion of RU28318 blocks aldosterone-salt hypertension. *Am J Physiol*. 258: E482-E484, 1990.
- GROBE, J.L.; MECCA, A.P.; LINGIS, M.; SHENOY, V.; BOLTON, T.A.; MACHADO, J.M.; SPETH, R.C.; RAIZADA, M.K.; KATOVICH, M.J. Prevention of angiotensin II-induced cardiac remodeling by angiotensin-(1-7). *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 292: 736-742, 2007.
- GROBE, J.L.; MECCA, A.P.; MAO, H.; KATOVICH, M.J. Chronic angiotensin-(1-7) prevents cardiac fibrosis in the DOCA-salt model of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 290: H2417-H2423, 2006
- GUTKIND J.S.; KURIHARA M.; SAAVEDRA, J.M. Increased angiotensin II receptors in brain nuclei of DOCA-salt hypertensive in rats. *Am J Physiol*. 255: H646-H650, 1988.
- GUYENET, P.G. The sympathetic control of blood pressure. *Nature reviews*. 7: 335-346, 2006.
- HARDING, J.W.; FELIX, D. Angiotensin-sensitive neurons in the rat paraventricular nucleus: relative potencies of angiotensin II and angiotensin III. *Brain Research*. 410: 130-134, 1987.
- HERINGER-WALTHER, S.; BATISTA, E.N.; WALTHER, T.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Baroreflex improvement in SHR after ACE inhibition involves angiotensin-(1-7). *Hypertension*. 37:1309-1314, 2001.
- HORWICH, T.; MIDDLEKAUFF, H. Potential autonomic nervous system effects of statins in heart failure. *Heart Fail Clin*. 4(2): 163-170, 2008.
- HOWE, P.R.; ROGERS, P.F.; MINSON, J.B. Influence of dietary sodium on blood pressure in baroreceptor-denervated rats. *J Hypertens*. 3(5): 457-460, 1985.
- HUANG, C.; YOSHIMOTO, M.; MIKI, K.; JOHNS, E. The contribution of brain angiotensin II to the baroreflex regulation of renal sympathetic nerve activity in conscious normotensive and hypertensive rats. *J Physiol*. 574(2): 597-604, 2006.

- ITAYA Y.; SUZUKI, H.; MATSUKAWA, S.; KONDO, K.; SARUTA, T. Central renin-angiotensin system and the pathogenesis of DOCA-salt hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 251: H261-H268, 1986.
- IYER, S.N.; CHAPPELL, M.C.; AVERILL, D.B.; DIZ, D.I.; FERRARIO, C.M. Vasodepressor Actions of Angiotensin-(1-7) Unmasked during combined treatment with lisinopril and losartan. *Hypertension.* 31: 699-705, 1998.
- IYER, S.N.; FERRARIO, C.M.; CHAPPELL, M.C. Angiotensin-(1-7) contributes to the antihypertensive effects of blockade of the renin-angiotensin system. *Hypertension.* 31 [part 2]: 356-361, 1998.
- JANIAK, P.C.; LEWIS S.J.; BRODY, M.J. Role of central mineralocorticoid binding sites in development of hypertension. *Am J Physiol Regul. Comp. Physiol.* 259: R1025-R1034, 1990.
- KASAMA, S.; TOYAMA, T.; HATORI, T.; SUMINO, H.; KUMAKURA, H.; TAKAYAMA, Y.; ICHIKAWA, S.; SUZUKI, T.; KURABAYASHI, M. Evaluation of cardiac sympathetic nerve activity and left ventricular remodelling in patients with dilated cardiomyopathy on the treatment containing carvedilol. *European Heart Journal* 28, 989–995, 2007
- KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. Dos fatores de risco clássicos ao perfil individualizado. Quais são os caminhos? *In: Hipertensão.* 8(4) 131-137, 2005.
- KUBO, T.; YAMAGUCHI, H.; TSUJIMURA, M.; HAGIWARA, Y.; FUKUMORI, R. Blockade of angiotensin Receptors in the anterior hypothalamic preoptic área lowers blood pressure in doca-salt hypertensive rats. *Hypertens Res.* 23: 109-118, 2000.
- KUSHIBIKI, M.; YAMADA, M.; OIKAWA, K.; TOMITA, H.; OSANAI, T.; OKUMURA, K. Aldosterone causes vasoconstriction in coronary arterioles of rats via angiotensin II type-1 receptor: influence of hypertension. *European Journal of Pharmacology.* 572: 182-188, 2007.
- LAL, A.; VEINOT, J.P.; GANTEN, D.; LEENEN, F.H.H. Prevention of cardiac remodeling after myocardial infarction in transgenic rats deficient in brain angiotensinogen. *J Mol Cell Cardiov.* 39: 521-529, 2005.
- LI, D-P.; CHEN, S-R.; PAN, H-L. Angiotensin II stimulates spinally projecting paraventricular neurons through presynaptic disinhibition. *J Neurosci.* 23: 5041-5049, 2003.
- LI, D-P.; CHEN, S-R.; PAN, H-L. Nitric oxide inhibits spinally projecting paraventricular neurons through potentiation of presynaptic GABA release. *J Neurophysiol.* 88: 2664-2674, 2002.
- LI, D-P.; PAN, H-L. Angiotensin II attenuates synaptic GABA release and excites paraventricular-rostral ventrolateral medulla output neurons. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 313(3): 1035-1045, 2005.
- LI, D-P.; PAN, H-L. Plasticity of GABAergic control of hypothalamic presympathetic neurons in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 290: H1110-1119, 2006.

- LI, Y.F.; JACKSON, K.L.; STERN, J.E.; RABELER, B.; PATEL, K.P. Interaction between glutamate and GABA systems in the integration of sympathetic outflow by the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 291: H2847-H2856, 2006.
- LOMBÉS, M.; OBLIN, M.E.; GASC, J.M.; BAULIEU, E.E.; FARMAN, N.; BONVALET, J.P. Immunohistochemical and biochemical evidence for a cardiovascular mineralocorticoid receptor. *Circulation Research*. 71(3): 503-510, 1992.
- MANFRINI, O.; PIZZI, C.; VIECA, M.; BUGIARDINI, R. Abnormalities of cardiac autonomic nervous activity correlate with expansive coronary artery remodeling. *Atherosclerosis*. 197: 183-189, 2008.
- MARTIN, K.A.; GRANT, S.G.; HOCKFIELD, S. The mas protooncogene is developmentally regulated in the rat central nervous system. *Brain Research*. 68: 75-82, 1992.
- MATSUDA, T.; SHIBATA, K.; ABE, M.; TOMONAGA, M.; FURUKAWA, T. Potentiation of pressor response to angiotensin II at the preoptic área in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 41: 749-754, 1987.
- MAY, C.N.; MCALLEN, R.M.; MCKINLEY, M.J. Renal nerve inhibition by central NaCl and Ang II is abolished by lesions of the lamina terminalis. *Am J Physiol Regul Integrative Comp Physiol*. 279: R1827-R1833, 2000.
- MEDUGORAC, I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. *Cardiovasc Res*. 14(9): 551-554, 1980.
- MILL, J.G.; MILANEZ, M.C.; RESENDE, M.M.; GOMES, M.G.S.; LEITE, C.M. Spironolactone prevents cardiac collagen proliferation after myocardial infarction in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 30(10): 739-744, 2003.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Em: *Portal da Saúde*. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=23616&janela=1](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=23616&janela=1). Acessado em 17 de Janeiro de 2007.
- MOREAU, D.; CHARDIGNY, J.M.; ROCHETTE, L. Effects of aldosterone and spiro lactone on the isolated perfused rat heart. *Pharmacology*. 53: 28-36, 1996.
- MORGAN, H.E.; BAKER, K.M. Cardiac Hypertrophy. *Circulation*. 83[1]:13-25, 1991.
- MORRISON, S.F. Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integrative Comp Physiol*. 281: R683-698, 2001.
- MOURA, MARINA MATOS. Reflexos cardiovasculares em camundongos com alteração na expressão do receptor da angiotensina-(1-7), Mas. 2007. 213f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas: Fisiologia e Farmacologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- MURATANI, H.; AVERILL, D.B.; FERRARIO, C.M. Effect of angiotensin II in ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*. 260: R977-R984, 1991.

- NEVES, L.A.A.; ALMEIDA, A.P.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A.S. Metabolism of angiotensin I in isolated rat hearts. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Biochemical Pharmacology*. 50 (9): 1451-1459, 1995.
- O'DONAUGHY, T.L.; BROOKS, V.L. Central action of increased osmolality to support blood pressure in deoxycorticosterone acetate-salt rats. *Hypertension*. 48: 658-663, 2006.
- OLIVEIRA, D.R.; SANTOS, R.A.S.; SANTOS, G.F.P.; KHOSLA, M.C.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Changes in the baroreflex control of heart rate produced by central infusion of selective angiotensin antagonists in hypertensive rats. *Hypertension*. 27:1284-1290, 1996.
- OSBORN, J.W.; HORNFELDT, B.J. Arterial baroreceptor denervation impairs long-term regulation of arterial pressure during dietary salt loading. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 275: H1558-H1566, 1998.
- OSBORN, J.W.; JACOB, F.; GUZMAN, P. A neural set-point for the long-term control of arterial pressure: beyond the arterial baroreceptor reflex. *Am J Physiol Integrative Comp Physiol*. 288: R846-R855, 2005.
- ORTIZ, P.A.; GARVIN, J.L. Intrarenal transport and vasoactive substances in hypertension. *Hypertension*. 38 [2]: 621-624, 2001.
- PAN, H-L. Brain angiotensin II and synaptic transmission. *Neurosciencist*. 10(5):422-431, 2004.
- PARK C.G.; LEENEN H.H. Effects of centrally administered losartan on deoxycorticosterone-salt hypertension rats. *J Korean Med Sci*. 16: 553-557, 2001.
- PAXINOS G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Orlando, Flórida: Academic Press (USA). Plate 22, 2nd Ed., 1986.
- PAUL, M.; MEHR, A.P.; KREUTZ, R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 86: 747-803, 2006.
- PEACH, M. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol Rev*. 57: 313-370, 1977.
- PHILLIPS, M.I.; SUMNERS, C. Angiotensin II in central nervous system physiology. *Regulatory peptides*. 78: 1-11, 1998.
- PICKEL, V.M.; CHAN, J. Co-localization of angiotensin II and gamma-aminobutyric acid in axon terminals in the rat subfornical organ. *Neuroscience Letters*. 193: 89-92, 1995.
- RIBEIRO, A.B.; KOHLMANN JR., O.; TAVARES, A. Definição, classificação e etiopatogenia da hipertensão arterial. In: Amodeo, C.; Lima, E.G.; Vazquez, E.C. Hipertensão Arterial. São Paulo: Sarvier. p 23-30, 1997.
- RICE, G.I.; THOMAS, D.A.; GRANT, P.J.; TURNER, A.J.; HOOPER, N.M. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem J*. 383: 45-51, 2004.

- ROBERT, V.; HEYMES, C.; SILVESTRE, J-S.; SABRI, A.; SWYNGHEDAUW, B.; DELCAYRE, C. Angiotensin AT1 receptor subtype as a cardiac target of aldosterone: role in aldosterone-salt-induced fibrosis. *Hypertension*. 33: 981-986, 1999.
- ROBERT, V.; THIEM, N.V.; CHEAV, S.L.; MOUAS, C.; SWYNGHEDAUW, B.; DELCAYRE, C. Increased cardiac types (I) and (III) collagen mRNAs in aldosterone-salt hypertension. *Hypertension*. 24:30-36, 1994.
- RUDE, M.K.; DUHANEY, T.A.S.; KUSTER, G.M.; JUDGE, S.; HEO, J.; COLUCCI, W.S.; SIWIK, D.A.; SAM, F. Aldosterone stimulates matrix metalloproteinases and reactive oxygen species in adult rat ventricular cardiomyocytes. *Hypertension*. 46: 555-561, 2005.
- SANTOS, R.A.S.; CASTRO, C.H.; GAVA, E.; PINHEIRO, V.B.; ALMEIDA, A.P.; DE PAULA, R.D.; CRUZ, J.S.; RAMOS, A.S.; ROSA, K.T.; IRIGOYEN, M.C.; BADER, M.; ALENINA, N.; KITTEN, G.T.; FERREIRA, A.J. Impairment of in vitro and in vivo heart function in angiotensin-(1-7) receptor Mas knockout mice. *Hypertension*. 47: 996-1002, 2006.
- SANTOS, R.A.S.; FAGUNDES-MOURA, C.R.; SIMÕES E SILVA, A.C. Efeitos cardiovasculares do sistema renina-angiotensina. *Revista Brasileira de Hipertensão*. 3: 227-236, 2000.
- SANTOS, R.A.S.; FERREIRA, A.J. Angiotensin-(1-7) and the renin-angiotensin system. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 16: 122-128, 2007.
- SANTOS, R.A.S.; FERREIRA, A.J.; PINHEIRO, S.V.B.; SAMPAIO, W.O.; TOUYZ, R.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Angiotensin-(1-7) and its receptor as a potential targets for new cardiovascular drugs. *Expert Opin. Invest. Drugs*. 14(8):1019-1031, 2005.
- SANTOS, R.A.S.; SIMÕES E SILVA, A.; MARIC, C.; SILVA, D.M.R.; MACHADO, R.P.; BUHR, I.; HERINGER-WALTHER, S.; PINHEIRO, S.V.; LOPES, M.T.; BADER, M.; MENDES, E.; LEMOS, V.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SCHULTHEISS, H-P.; SPETH, R.; WALTHER, T. Angiotensin-(1-7) is na endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 100(14) 8258-8263, 2003.
- SANTOS, SÉRGIO HENRIQUE SOUSA. Avaliação dos distúrbios metabólicos produzidos pela deleção genética do receptor de angiotensina-(1-7), Mas, em camundongos FVB/N. 2007. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas: Fisiologia e Farmacologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- SAKAI, K.; CHAPLEAU, M.W.; MORIMOTO, S.; CASSELL, M.D.; SIGMUND, C.D. Differential modulation of baroreflex control of heart by neuron- vs. glia-derived angiotensin II. *Physiol Genomics*. 20: 66-72, 2004.
- SCHENK, J.; McNEILL, J.H. The pathogenesis of DOCA-Salt hypertension. *J Pharmacol and Toxicol Methods*. 27:161-170, 1992.
- SCHIAVONE, M.T.; SANTOS, R.A.S.; BROSNIHAN, K.B.; KHOSLA, M.C.; FERRARIO, C.M. Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophysial system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. *Proc Natl Acad. Sci*. 85:4095-4098, 1988.

- SCHMIDT, B.M.W.; MONTEALEGRE, A.; JANSON, C.P.; MARTIN, N.; SCHERHAG, A.; FEURING, M.; CHRIST, M.; WEHLING, M. Short term cardiovascular effects of aldosterone in healthy male volunteers. *J Clin Endocrinol Metab.* 84: 3528-3533, 1999.
- SEELAND, U.; SELEJAN, S.; ENGELHARDT, S.; MÜLLER, P.; LOHSE, M.J.; BÖHM, M. Interstitial remodeling in beta1-adrenergic receptor transgenic mice. *Basic Res Cardiol.* 102(2):183-93, 2007.
- SILVA, A.Q.G.; SANTOS, R.A.S.; FONTES, M.A.P. Blockade of endogenous angiotensin-(1-7) in the hypothalamic paraventricular nucleus reduces renal sympathetic tone. *Hypertension.* 46: 341-348, 2005.
- SILVA, L.C.S.; FONTES, M.A.P.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.C.; KHOSLA, M.C.; CAMPOS JR, R.R.; GUERTZENSTEIN, P.G.; SANTOS, R.A.S. Cardiovascular effects produced by micro-injection of angiotensin-(1-7) on vasopressor and vasodepressor sites of the ventrolateral medulla. *Brain Research.* 613: 321-325, 1993.
- SILVESTRE, J-S.; HEYMES, C.; OUBÉNAÏSSA, A.; ROBERT, V.; AUTETIT-FAISANT, B.; CARAYON, A.; SWYNGHEDAUW, B.; DELCAYRE, C. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation.* 99: 2694-2701, 1999.
- TAGAWA, T.; DAMPNEY, R.A.L. AT1 receptors mediate excitatory inputs to RVLM pressor neurons from hypothalamus. *Hypertension.* 34: 1301-1307, 1999.
- TIMMERMANS, P.B.M.W.M.; WONG, P.C.; CHIU, A.T.; HERBLIN, W.F.; BENFIELD, P.; CARINI, D.J.; LEE, R.J.; WEXLER, R.R.; SAYE, J.A.M.; SMITH, R.D. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacological Reviews.* 45(2): 205-251, 1993.
- TIPNIS, S.R.; HOOPER, N.M.; HYDE, R.; KARRAN, E.; CHRISTIE, G.; TURNER, A.J. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J. Biol. Chem.* 275:3238-3242, 2000.
- TURNER, A.J.; HOOPER, N.M. The angiotensin-converting enzyme gene family: genomics and pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* 23(4):177-183, 2002.
- UEMURA, K.; LI, M.; TSUTSUMI, T.; YAMAZAKI, T.; KAWADA, T.; KAMIYA, A.; INAGAKI, M.; SUNAGAWA, K.; SUGIMACHI, M. Efferent vagal nerve stimulation induces inhibitor of metalloproteinase-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbit. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 293: H2254-H2261, 2007.
- VEERASINGHAM, S.J.; RAIZADA, M.K. Review: Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *British Journal of Pharmacology.* 139: 191-202, 2003.
- WALTHER, T.; BALSCHUN, D.; VOIGT, J-P.; FINK, H.; ZUSCHRATTER, W.; BIRCHMEIER, C.; GANTEN, D.; BADER, M. sustained long term potentiation and anxiety in mice lacking the *Mas* protooncogene. *The Journal of Biological Chemistry.* 273(19): 11867-11873, 1998.

- WANG, Q.; HUMMLER, E.; NUSSBERGER, J.; CLÉMENT, S.; GABBIANI, G.; BRUNNER, H.R.; BURNIER, M. Blood pressure, cardiac, and renal responses to salt and deoxycorticosterone acetate in mice: role of rennin genes. *J Am Soc Nephrol*. 13: 1509-1516, 2002.
- WANG, H.; HUANG, B.S.; GANTEN, D.; LEENEN, F.H.H. Prevention of Sympathetic and Cardiac Dysfunction after myocardial infarction in transgenic rats deficient in brain angiotensinogen. *Circ Res*. 94: 843-849, 2004.
- WEBER, K.T.; BRILLA, C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation*. 83:1849-1865, 1991.
- WEBER, K.T.; JANICKI, S.G.; SHROFF, R.P.; CHEN, R.M.; BASHEY, R.I. Collagen remodeling of the pressure-overloaded, hypertrophied nonhuman primate myocardium. *Circ Res*. 62:757-765, 1988.
- WEHLING, M.; SPES, C.H.; WIN, N.; JANSON, C.; SCHMIDT, B.M.W.; THEISEN, K.; CHRIST, M. Rapid cardiovascular action of aldosterone in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 83: 3517-3522, 1998.
- WELCHES, W.R.; SANTOS, R.A.S.; CHAPPELL, M.C.; BROSNIHAN K.B.; GREENE, I.; FERRARIO, C.M. Prolyl endopeptidase participates in the processing brain angiotensin. *Journal of Hypertension*. 9: 631-638, 1991.
- WEYHENMEYER, J.A.; MEYER, J.M. Angiotensin II in the brain and brainstem of the DOCA-salt hypertensive rat. *Clin Exp Hypertension*. A7:73-92, 1985.
- WILSON, K.M.; SUMNERS, C.; HATHAWAY, S.; FREGLY, M.J. Mineralocorticoids modulate central angiotensin II receptors in rats. *Brain Res*. 382: 87-96, 1986.
- WRIGHT, J.W.; SULLIVAN, M.J.; QUIRK, W.S.; BATT, C.M.; HARDING, J.W. Heightened blood pressure and drinking responsiveness to intracerebroventricularly applied angiotensins in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Res*. 420: 289-294, 1987.
- YAMAZATO, M.; YAMAZATO, Y.; SUN, C.; DIEZ-FREIRE, C.; RAIZADA, M.K. Overexpression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Rostral Ventrolateral Medulla Causes Long-Term Decrease in blood Pressure in the Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension*. 49: 926-931, 2007.
- YIN, F.C.; SPURGEON, H.A.; RAKUSAN, K.; WEISFELDT, M.L.; LAKATTA, E.G. Mechanical properties of myocardium from hypertrophied rat hearts. *Circ Res*. 46:292-300, 1980.
- YIN, F.C.; SPURGEON, H.A.; RAKUSAN, K.; WEISFELDT, M.L.; LAKATTA, E.G. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *Am J Physiol*. 243(6): H941-947, 1982.
- ZHANG, ZHI-HUA.; YU YANG.; KANG, YU-MING.; WEI SHUN-GUANG.; FELDER R.B. Aldosterone acts centrally to increase brain renin-angiotensin system activity and oxidative stress in normal rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 294: H1067-H1074, 2008.

ZIMMERMANN, B. Effect of acute sympathectomy on response to angiotensin and norepinephrine. *Circ Res.* 11: 780-787, 1962.

ZUCKER, I.H. Brain Angiotensin II: New insights into its role in sympathetic regulation. *American Heart Association.* 90(5): 503-505, 2002.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)