

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA CIÊNCIAS E LETRAS
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

Papel da angiotensina X e do seu análogo sintético RI-58 na mediação da nocicepção modulada pela substância cinzenta periaquedutal de rato

Liliane Monteiro Guethe

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de concentração: Psicobiologia.

RIBEIRÃO PRETO

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Liliane Monteiro Guethe

**Papel da angiotensina X e do seu análogo sintético RI-58 na mediação
da nocicepção modulada pela substância cinzenta periaquedutal de
rato**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo - USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Roberto Martins

RIBEIRÃO PRETO

2009

RESUMO

GUETHE, L. M. **Papel da Angiotensina X e do seu análogo sintético RI-58 na mediação da nocicepção modulada pela substância cinzenta periaquedutal de rato.** 2009. 84 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

O sistema renina-angiotensina (SRA) encefálico participa da regulação cardiovascular, do equilíbrio hidro-eletrolítico corporal e da plasticidade neural. Evidências indicam a participação do SRA encefálico na nocicepção. O substrato da renina, a angiotensina (Ang) I, Ang II e Ang III exibem efeito antinociceptivo quando microinjetados na região ventrolateral (vl) da substância cinzenta periaquedutal (SCP) de rato. Ang II e Ang III podem desencadear efeito antinociceptivo mediado por receptores de angiotensina AT₁ e AT₂. O efeito antinociceptivo da Ang III na SCPvl de rato parece predominar sobre o da Ang II, e a Ang III endógena parece modular o controle nociceptivo mediado pela SCP. Entretanto, o efeito antinociceptivo da Ang X, que foi dada como inativa considerando funções clássicas das angiotensinas, ainda não foi estudado. Assim, o objetivo deste trabalho foi examinar o efeito antinociceptivo da Ang X e do seu análogo sintético RI-58, usando o teste de retirada da cauda com antagonistas de receptores e inibidores da sintase neuronal do óxido nítrico (nNOS) e da guanilil ciclase solúvel (sGC). A microinjeção da Ang X e do RI-58 na SCPvl desencadeou efeito antinociceptivo relacionado à dose e específico para esta região. O efeito antinociceptivo da Ang X e do RI-58 foi bloqueado pela microinjeção prévia de saralasin, antagonista não-seletivo de receptores de angiotensina, sugerindo que este efeito foi mediado por receptor de angiotensina. Os efeitos da Ang X e do RI-58 não foram bloqueados por losartan, CGP 42,112A, divalinal-Ang IV e A-779, que são antagonistas seletivos dos receptores de angiotensina tipos 1, 2 e 4, e do receptor acoplado à proteína G Mas, respectivamente, indicando que a ação da Ang X e do RI-58 não ocorre pelos receptores de angiotensina identificados até o momento. O efeito antinociceptivo da Ang X foi inibido pelo N^o-propil-L-Arg (NPLA) e pelo 1H-[1,2,4]-oxadiazolo-[4,3-a]-quinoxalin-1-ona (ODQ), inibidores da nNOS e da sGC, respectivamente, sugerindo que o efeito deste peptídeo depende de uma via nNOS-sGC ativa na SCPvl. O efeito antinociceptivo do RI-58 parece depender da nNOS, uma vez que foi inibido pelo NPLA. Naloxona, antagonista não-seletivo de receptores opióides, bloqueou o efeito antinociceptivo da Ang X, mas não o do RI-58, sugerindo que apenas o efeito antinociceptivo da Ang X na SCPvl depende da atividade de receptores opióides. Em conclusão, a microinjeção de Ang X e RI-58 na SCPvl desencadeia efeito antinociceptivo relacionado à dose, específico para esta região e mediado por receptor de angiotensina ainda não identificado. O efeito antinociceptivo da Ang X na SCPvl parece depender de uma via nNOS-sGC ativa e da atividade de receptores opióides. O efeito antinociceptivo do RI-58 na SCPvl parece depender da atividade de nNOS, mas não da atividade de receptores opióides.

Palavras-chave: angiotensina X; RI-58; receptores de angiotensina; nNOS; sGC; receptores opióides; antinocicepção; substância cinzenta periaquedutal.

ABSTRACT

GUETHE, L. M. **Role of Ang X and compound RI-58, a synthetic analogue of Ang X, in the mediation of nociception modulated by the rat periaqueductal gray matter.** 2009. 84 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

The brain renin-angiotensin system (RAS) participates in cardiovascular and body fluid homeostasis and neural plasticity. Growing evidence indicates the participation of RAS in nociception. Renin substrate, angiotensin (Ang) I, Ang II, and Ang III exhibit antinociceptive effect upon injection into the rat ventrolateral (vl) periaqueductal gray matter (PAG). Ang II and Ang III can elicit receptor-mediated antinociception. The antinociceptive effect of Ang III in the vlPAG appears to predominate over that of Ang II, and endogenous Ang III appears to modulate the nociceptive control mediated by the PAG. However, the antinociceptive effect of Ang X, which was considered inactive regarding classical Ang functions, was not yet studied. Therefore, the aim of this work was to examine the antinociceptive effect of Ang X and compound RI-58, using the tail flick test with receptor antagonists, neuronal nitric oxide synthase (nNOS) and soluble guanylyl cyclase (sGC) inhibitors. Ang X and RI-58 showed dose-related and region-specific effects when microinjected into the vlPAG. The antinociceptive effect of Ang X and RI-58 were blocked by saralasin, a non-selective Ang receptor antagonist, suggesting that both Ang X and RI-58 acted *via* Ang-receptor. The effects of Ang X and RI-58 were not blocked by losartan, CGP 42,112A, divalinal-Ang IV and A-779, which are selective antagonists of Ang receptors types I, II and IV, and of the G protein-coupled receptor Mas, respectively, suggesting that Ang X and RI-58 did not act *via* known Ang receptors. Ang X antinociceptive effect was inhibited by *N*⁰-propyl-L-Arg (NPLA) and 1H-[1,2,4]-oxadiazolo-[4,3-a]-quinoxalin-1-one (ODQ), selective inhibitors of nNOS and sGC, respectively, suggesting that the antinociceptive effect of Ang X requires a functioning nNOS-sGC pathway in vlPAG. RI-58 antinociceptive effect appears to depend on nNOS, since it was inhibited by NPLA. Naloxone, a non-selective opioid receptor antagonist, blocked the Ang X antinociceptive effect, but not that of RI-58, suggesting that Ang X antinociceptive effect in vlPAG depends on the activity of opioid receptors. In conclusion, Ang X and RI-58 elicit a dose-related, region-specific and Ang-receptor mediated antinociceptive effect in the vlPAG that do not appear to be mediated by known Ang receptors. Ang X antinociceptive effect in vlPAG requires an operating nNOS-sGC pathway and depends on the activity of opioid receptors. RI-58 antinociceptive effect depends on nNOS activity, but not on the activity of opioid receptors.

Key words: angiotensin X; RI-58; angiotensin receptors; nNOS; sGC; opioid receptors; antinociception; periaqueductal gray matter.

Introdução

A descoberta do sistema renina-angiotensina (SRA) teve início quando Tiegerstedt e Bergman¹ (1898 *apud* WRIGHT; YAMAMOTO; HARDING, 2008) observaram que extratos salinos de rim injetados em coelhos aumentaram moderadamente a pressão sanguínea e que o princípio causador deste efeito estava presente no córtex, mas não na medula renal. Estes autores concluíram que a substância pressora era uma proteína, à qual deram o nome de renina. Aproximadamente 40 anos depois, este achado levou ao isolamento de um agente vasoconstritor em rins isquêmicos de cães hipertensos tipo *Goldblatt* (BRAUN-MENENDEZ *et al.*, 1940). Outro grupo de pesquisadores isolou o mesmo agente após injetar renina em animais intactos e identificou um “ativador da renina” (PAGE; HELMER, 1940), mais tarde identificado como angiotensinogênio. O verdadeiro agente vasoconstritor era um octapeptídeo, chamado inicialmente de “angiotonina” (PAGE; HELMER, 1940) e “hipertensina” (BRAUN-MENENDEZ *et al.*, 1940) e posteriormente denominado angiotensina (Ang) II.

O SRA clássico é um sistema endócrino envolvido na regulação da pressão sanguínea sistêmica e no equilíbrio hidroeletrolítico corporal (PEACH, 1977). A glicoproteína angiotensinogênio é liberada pelo fígado na circulação e clivada pela aspartil-protease renina (EC 3.4.23.15), que é secretada pelo aparelho justaglomerular renal formando o decapeptídeo Ang I. A Ang I é então convertida no octapeptídeo Ang II pela enzima conversora de angiotensina I (ECA, EC 3.4.15.1), uma dipeptidil carboxipeptidase expressa predominantemente e em altas concentrações na superfície luminal das células endoteliais da circulação pulmonar. A Ang II tem sido considerada o principal peptídeo efetor do SRA clássico e age, por exemplo, induzindo vasoconstrição por interagir com receptores de angiotensina tipo 1 (AT₁) nas células do músculo liso vascular ou estimulando a liberação de

¹ Tiegerstedt, R. and Bergman, P.G. Niere und kreislauf. Skand. Arch. Physiol., 8, 223–231, 1898.

aldosterona pelo córtex supra-renal. A figura 1 resume a organização e as funções do SRA clássico.

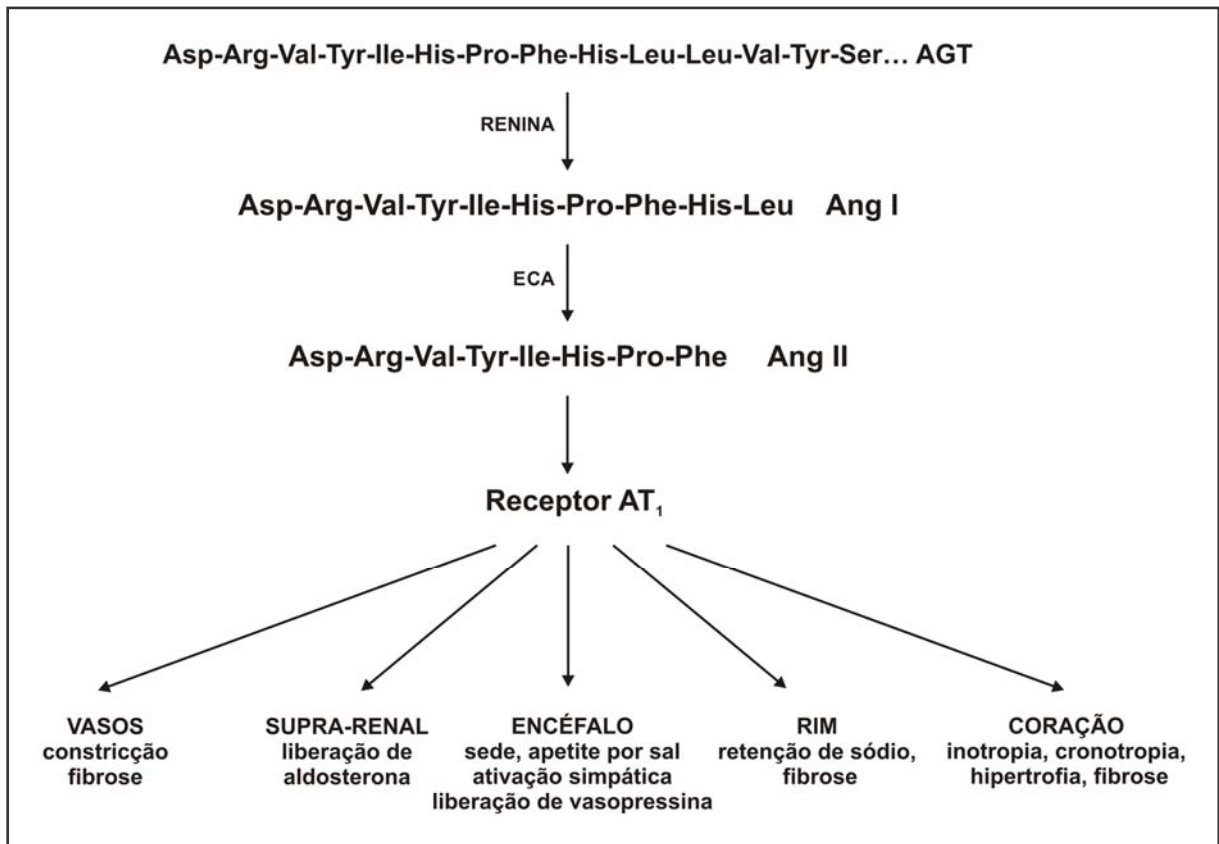


Figura 1 - Sistema renina-angiotensina clássico. AGT, angiotensinogênio; Ang, angiotensina; ECA, enzima conversora de angiotensina I. (segundo Bader e Ganten, 2008)

Nas últimas décadas, tem se tornado cada vez mais evidente que, em adição ao SRA clássico, existe um SRA presente em vários tecidos e órgãos. De fato, todos os componentes do SRA ocorrem, por exemplo, nas gônadas, placenta, pâncreas, tecido adiposo, coração e hipófise (von BOHLEN und HALBACH, 2005). Além disso, produção intracelular de Ang II tem sido observada em células musculares miocárdicas (SINGH *et al.*, 2007) e em fibroblastos cardíacos (SINGH; BAKER; KUMAR, 2008). Assim, atualmente reconheceu-se que o SRA age como sistema endócrino, parácrino, autócrino e intrácrino.

O conceito de SRA encefálico desenvolveu-se a partir das evidências da síntese de Ang II no encéfalo (GANTEN *et al.*, 1971), da evocação de resposta pressora mediada

centralmente pela injeção intra-cérebro-ventricular (i.c.v.) de Ang II (BICKERTON; BUCKLEY, 1961) e do efeito hipotensor da administração central do antagonista não-seletivo de receptores de angiotensina, saralasin (PHILLIPS *et al.*, 1977). A Ang II circulante não atinge a maioria dos receptores angiotensinérgicos encefálicos devido à barreira hematoencefálica, que ela não cruza apreciavelmente. Assim, é improvável que a Ang II encefálica se origine do SRA periférico (HARDING *et al.*, 1988; PRINTZ, 1988). De fato, as concentrações de Ang II no encéfalo variam de 590 fmol/g de hipotálamo a 15 fmol/grama de córtex cerebral (média 50 fmol/g de tecido nervoso), ao passo que a concentração plasmática de Ang II é 17 fmol/ml (HERMANN *et al.*, 1984). Mostrou-se então a ocorrência de SRA encefálico completo e claramente separado daquele periférico (GANTEN; SPECK, 1978; GANTEN *et al.*, 1984; MOFFETT; BUMPUS; HUSAIN, 1987).

Todos os componentes do SRA, incluindo precursores e enzimas requeridas para a formação e degradação de angiotensinas, assim como receptores de angiotensina, têm sido identificados no encéfalo (ZINI *et al.*, 1996). Como no SRA periférico, as angiotensinas encefálicas são sintetizadas por clivagem enzimática sequencial do angiotensinogênio. Portanto, o requerimento mínimo para a síntese de todas as angiotensinas é a síntese de angiotensinogênio. A principal fonte deste precursor no encéfalo são os astrócitos, entretanto, também pode ser sintetizado em menor magnitude por neurônios (McKINLEY *et al.*, 2003). A Ang II é clivada pela aminopeptidase ácida (APA, EC 3.4.11.7) formando o heptapeptídeo Ang III que é, então, convertido em Ang IV pela ação da aminopeptidase neutra (APN, EC 3.4.11.2) e/ou aminopeptidase B (APB, EC 3.4.11.6).

Outro peptídeo participante do SRA encefálico é a Ang (1-7). Esta é sintetizada pela clivagem da ligação Pro⁷-Phe⁸ da Ang II pela prolil endopeptidase (MARTINS *et al.*, 1980; GREENE *et al.*, 1982) ou carboxipeptidase P (EC 3.4.17.16) (HEDEAGER-SØRENSEN; KENNY, 1985). A ECA-2 (VICKERS *et al.*, 2002), uma carboxipeptidase recentemente

descoberta é responsável pela síntese da Ang (1-7) também a partir da Ang II. Outra via de formação da Ang (1-7) é a partir da Ang I, pela ação de algumas endopeptidases (EPs) como prolil endopeptidase (MARTINS *et al.*; 1980; GREENE *et al.*, 1982), EP 24.11 (NEP) (KERR; KENNY, 1974a,b; ALMENOFF; ORLOWSKI, 1983), EP 24.15 (thimet oligopeptidase, TOP) (ORLOWSKI; MICHAUD; CHU, 1983; CHU; ORLOWSKI, 1985) e EP 24.16 (neurolisina) (CHECLER; VINCENT; KITABGI, 1983; DAHMS; MENTLEIN, 1992; RIOLI *et al.*, 1998).

Existe também uma via alternativa de síntese de Ang III na aorta (SIM, 1993) e no hipotálamo (SIM; CHOO; QIU, 1994; SIM; QIU, 1994) independente da formação inicial de Ang II. Nesta via, a Ang I é hidrolisada pela aspartil-aminopeptidase (WILK; WILK; MAGNUSSON, 1998) em [des-Asp¹]-Ang I que é convertida em Ang III pela ECA. Na região ventrolateral (vl) da substância cinzenta periaquedutal (SCP), a hidrólise da Ang I em [des-Asp¹]-Ang I nesta via alternativa é realizada pela APA (PELEGRINI-DA-SILVA *et al.*, 2009, submetido PAIN).

Além da renina e da ECA, outras enzimas podem produzir Ang II a partir do angiotensinogênio ou da Ang I. Dentre estas enzimas estão: tonina, catepsina G, ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e quimase, todas presentes no encéfalo (BALTATU; BADER, 2003). A catepsina D é vista como a provável responsável pela síntese de Ang I no sistema nervoso central (SNC) (McKINLEY *et al.*, 2003; KRAMKOWSKI; MOGIELNICKI; BUCZKO, 2006).

A figura 2 sumariza as principais vias de formação das angiotensinas.

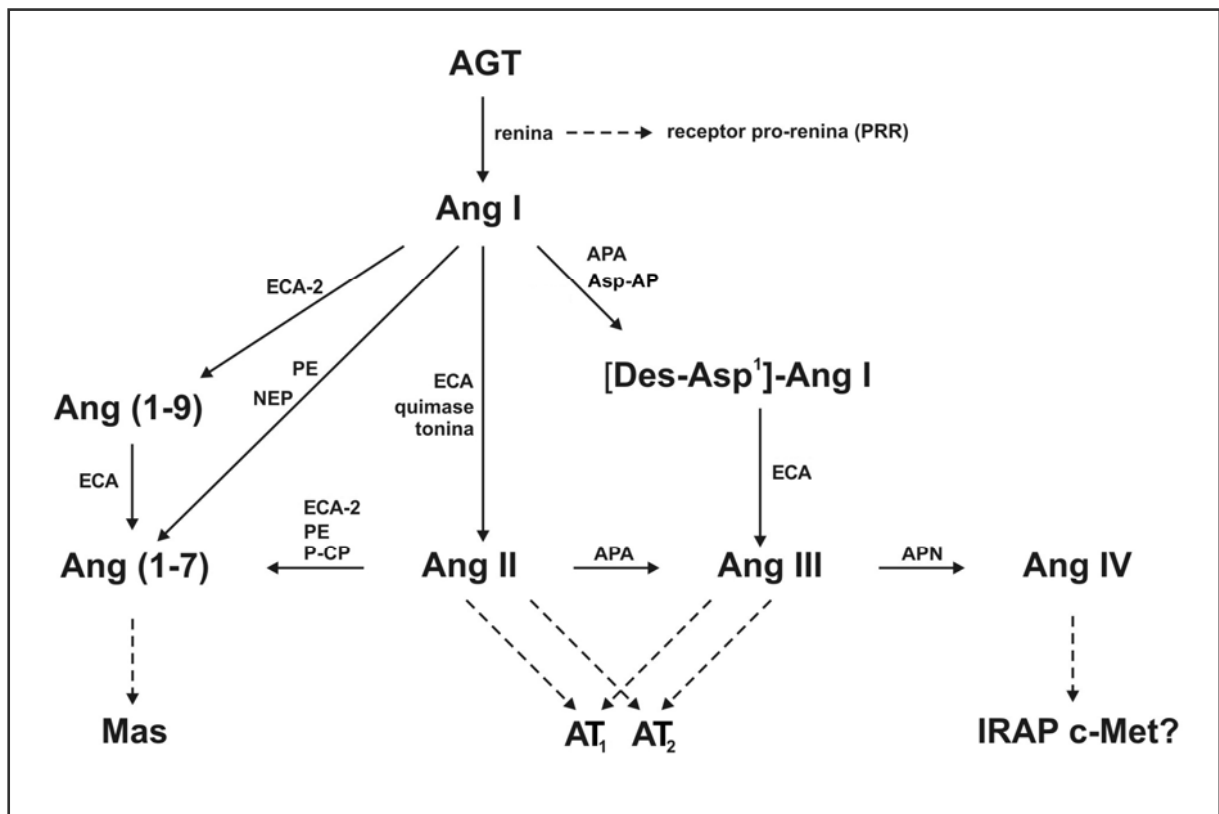


Figura 2 - Sistema renina-angiotensina atual. AGT, angiotensinogênio; Ang, angiotensina; ECA, enzima conversora de angiotensina I; ECA-2, enzima conversora de angiotensina 2; APA, aminopeptidase A; Asp-AP, aspartil-aminopeptidase; APN, aminopeptidase N; IRAP, aminopeptidase regulada por insulina; Mas, receptor acoplado à proteína G Mas; NEP, endopeptidase neutra; P-CP, prolil-carboxipeptidase; PE, prolil-endopeptidase. (segundo Wright, Yamamoto e Harding, 2008, modificado)

Ang II e Ang III realizam suas ações pela interação com dois subtipos de receptores de angiotensina, AT₁ e AT₂ (TIMMERMANS *et al.*, 1993; HAUSER; JOHREN; SAAVEDRA, 1998; DE GASPARO *et al.*, 2000). Funções fisiológicas clássicas do SRA geralmente são atribuídas ao receptor AT₁ incluindo o balanço hidroelotrolítico corporal, manutenção da pressão sanguínea, controle da liberação de vasopressina, ciclicidade de hormônios reprodutivos e comportamentos sexuais e controle da secreção de hormônios pituitários (WRIGHT; YAMAMOTO; HARDING, 2008). Já o receptor AT₂ tem sido implicado no controle do fluxo sanguíneo, apoptose, regeneração neuronal após lesão e inibição de

crescimento patológico (WRIGHT; HARDING, 1997; von BOHLEN und HALBACH; ALBRECHT, 2006). Estes receptores também estão envolvidos na liberação de vasopressina pela neuro-hipófise após injeção de Ang II ou Ang III nos núcleos supra-óptico ou paraventricular (ANTUNES-RODRIGUES *et al.*, 2004). Antagonistas seletivos existem para estes dois receptores, o losartan é seletivo para AT₁ (TIMMERMANS *et al.*, 1993) enquanto que o CGP42,112A é seletivo para AT₂ (HAUSER; JOHREN; SAAVEDRA, 1998).

A Ang IV se liga a outro subtipo de receptor de angiotensina presente no encéfalo, o AT₄ (SWANSON *et al.*, 1992), a julgar pelo antagonismo de seus efeitos pelo divalinal-Ang IV, um antagonista seletivo para este receptor (KREBS *et al.*, 1996). Através do receptor AT₄ a Ang IV pode mediar respostas como aquisição e retenção de memória, aprendizado, comportamento locomotor exploratório, regulação do fluxo sanguíneo e desenvolvimento neuronal (WRIGHT *et al.*, 1995; WRIGHT; HARDING, 1997; von BOHLEN und HALBACH, 2003; von BOHLEN und HALBACH; ALBRECHT, 2006). A Ang IV também se liga aos receptores AT₁ e AT₂ em concentrações micromolares (WRIGHT; HARDING, 1997; MCKINLEY *et al.*, 2003).

A Ang (1-7) exerce efeito anti-hipertensor por estimular a síntese e a liberação de prostaglandinas vasodilatadoras e óxido nítrico (NO) e por potencializar os efeitos hipotensores da bradicinina (SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000; SANTOS; FERREIRA; SIMOES E SILVA, 2008). Estas ações podem ser mediadas por um receptor específico, o receptor acoplado à proteína G Mas (SANTOS *et al.*, 2003) e antagonizadas pelo composto A-779 {[D-Ala⁷]-Ang (1-7)} (SANTOS *et al.*, 1994)

Além das funções mencionadas anteriormente, há evidências da participação do SRA encefálico na modulação da nocicepção. O primeiro trabalho da literatura que relacionou SRA encefálico e nocicepção foi o de Haulică *et al.* (1986), que demonstrou que a imobilização por estresse em ratos aumenta os níveis de renina no hipotálamo. A analgesia resultante foi

antagonizada pela administração prévia de saralasin ou naloxona, antagonista não-seletivo de receptores opióides, sugerindo participação do SRA na analgesia por estresse, e o envolvimento de peptídeos opióides no seu mecanismo de ação. Da mesma forma, Raghavendra, Chopra e Kulkarni (1999) mostraram que a administração de Ang II no ventrículo lateral de ratos aumenta a latência das respostas destes animais no teste de retirada da cauda. Este aumento foi revertido pela administração prévia de losartan ou naloxona, sugerindo que a analgesia induzida pela Ang II é mediada por mecanismos opioidérgicos, possivelmente pela liberação de opióides endógenos através da ativação de receptores AT₁. A injeção i.c.v. de Ang II exerce efeito antinociceptivo dose-dependente no teste de contorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos. Tanto saralasin como sarmesin, antagonista não-seletivo dos receptores de angiotensina, antagonizam o efeito antinociceptivo da Ang II, sendo mais pronunciada a ação do último antagonista (GEORGIEVA; GEORGIEV, 1999).

Shimamura, Kawamuki e Hazato (1987) utilizaram o teste da placa quente e obtiveram efeito analgésico com a administração i.c.v. de Ang III em camundongos. A microinjeção da Ang III no núcleo reticular gigantocelular de ratos aumenta a latência para a retirada da cauda em resposta a estímulo nocivo térmico (YIEN *et al.*, 1993) e a aplicação iontoforética de Ang III diminui a sensibilidade de neurônios do núcleo reticular gigantocelular a estímulo nocivo periférico (CHAN *et al.*, 1994).

Portanto, a maioria dos experimentos realizados para avaliar o efeito antinociceptivo de angiotensinas utilizou injeção i.c.v., exceto pelos trabalhos de Yien *et al.* (1993) e Chan *et al.* (1994) que utilizaram microinjeção intracerebral. A injeção i.c.v., além de não permitir localizar a(s) região(s) responsável pelo efeito antinociceptivo, pode impedir sua detecção.

Reynolds (1969) mostrou a importância de sistemas descendentes no controle da dor, ao observar que a estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal (SCP)

mesencefálica causava forte antinocicepção em ratos, o que lhe permitiu realizar uma cirurgia abdominal na ausência de qualquer anestesia. A reatividade reduzida dos animais foi interpretada como específica para estímulos nociceptivos (antinocicepção), uma vez que estes animais continuavam a responder aos estímulos ambientais, mas não aos estímulos pró-nociceptivos.

A região ventrolateral (vl) da SCP é uma das regiões mais sensíveis em desencadear antinocicepção por estimulação química ou elétrica (BESSION; CHAOUCH, 1987) e estimulação elétrica desta subdivisão da SCP deprime a resposta de neurônios da medula espinhal à estimulação nociva (SANDHKULER *et al.*, 1996). Além disso, estimulação periférica nociva persistente aumenta a atividade elétrica da SCP (MONHEMIUS *et al.*, 2001) e a expressão de c-fos em neurônios da SCP ventral (WANG; NAKAI, 1994).

Em várias regiões da SCP, a analgesia é acompanhada de reações comportamentais adicionais, sugerindo que o efeito analgésico observado associado a comportamento aversivo significativo poderia ser devido ao estresse (BESSION; FARDIN; OLIVÉRAS, 1991). Entretanto, Fardin, Olivéras e Besson (1984) relataram a existência de “efeitos analgésicos puros” que poderiam ser evocados pela estimulação elétrica de duas áreas restritas localizadas na região ventral da SCP: a parte dorsomedial do núcleo dorsal da rafe e a parte ventrolateral da SCP. Nas demais áreas da SCP, a analgesia produzida por estimulação foi geralmente acompanhada por fortes reações aversivas e motoras. Além de respostas antinociceptivas, respostas defensivas como *freezing* podem ser obtidas pela estimulação elétrica da SCPvl (FANSELOW, 1991; MORGAN; CARRIVE, 2001; VIANNA *et al.*, 2001; FAROOK *et al.*, 2004). Os substratos neurais que medeiam a antinocicepção fazem parte de uma resposta comportamental integrada (MORGAN; WHITNEY, 2000). Supõe-se que a antinocicepção participe da reação de defesa específica do animal a situações ameaçadoras, pois permite que o animal se engaje em comportamentos defensivos apesar da dor de uma lesão que ele possa

ter recebido (DE LUCA-VINHAS; MACEDO; BRANDÃO, 2006). Assim, a correlação entre aversão e antinocicepção observada em diversos sítios cerebrais, entre eles a SCP (PRADO; ROBERTS, 1985), pode ter importante papel na elaboração do comportamento do organismo diante de um estímulo ameaçador. Uma vez que estes dois efeitos da estimulação elétrica da SCP podem ser farmacologicamente dissociados (MORGAN; DEPAULIS; LIEBESKIND, 1987; DE LUCA-VINHAS; MACEDO; BRANDÃO, 2006), poderiam depender de substratos neurais paralelos em alguns sítios e isolados em outros (PRADO; ROBERTS, 1985).

Os neurotransmissores/neuromoduladores envolvidos na modulação do processamento nociceptivo realizada pela SCP incluem monoaminas, glutamato, aspartato, ácido gama aminobutírico (GABA), neurotensina, substância P, encefalinas e NO (BEITZ, 1995; BEHBEHANI, 1995). Fibras angiotensinérgicas (LIND; SWANSON; GANTEN, 1985; LIND; GANTEN, 1990) e receptores angiotensinérgicos (WRIGHT *et al.*, 1997; PELEGRINI-DA-SILVA; MARTINS; PRADO, 2005) foram identificadas na SCP, inclusive na região ventrolateral.

Assim, diante de todas estas evidências, a SCP foi eleita como região alvo para realizar *screening* da atividade antinociceptiva das angiotensinas.

Resultados anteriores de nosso grupo mostraram que a microinjeção do tetradecapeptídeo substrato da renina, Ang I, Ang II e Ang III na SCPvl, na região ventral da SCP e no núcleo dorsal da rafe de ratos produziu efeito antinociceptivo detectado pelo teste de retirada da cauda. Além disso, o efeito antinociceptivo da Ang II na SCPvl foi bloqueado pela saralasin, indicando ser mediado por receptor de angiotensina (PRADO; PELEGRINI-DA-SILVA; MARTINS, 2003). Estes experimentos mostraram, pela primeira vez, que a microinjeção da Ang II na SCP desencadeou antinocicepção mediada por receptor de angiotensina. A microinjeção da Ang II na SCPvl de rato desencadeou efeito antinociceptivo dose-relacionado e mediado por receptores AT₁ e AT₂ em dois modelos de dor, o da retirada

da cauda e o da alodinia incisional (PELEGRINI-DA-SILVA; MARTINS; PRADO, 2005). A microinjeção prévia de losartan e CGP42,112A na SCPvl bloqueou o efeito antinociceptivo da Ang II, sugerindo que este efeito é mediado por AT₁ e AT₂. Em adição, o bloqueio dos receptores AT₁ e AT₂ na SCPvl pela injeção de losartan e CGP42,112A isoladamente aumentou a alodinia incisional. Receptores AT₁ e AT₂ foram detectados por método imunohistoquímico na SCPvl, estabelecendo correspondência anatômica com os achados farmacológicos (PELEGRINI-DA-SILVA; MARTINS; PRADO, 2005). A microinjeção da Ang III na SCPvl desencadeou efeito antinociceptivo dose-relacionado que foi antagonizado por baixas doses de losartan e CGP42,112A, indicando sua mediação por receptores AT₁ e AT₂ (PELEGRINI-DA-SILVA *et al.*, 2009, submetido PAIN). Além disso, a microinjeção da Ang III na SCPvl reduziu a alodinia incisional de maneira dose-dependente. A amastatina, inibidor não-seletivo da APA (ABHOLD *et al.*, 1987), bloqueou significativamente a formação da Ang III pela SCPvl *in vitro* e completamente o efeito antinociceptivo da Ang III *in vivo*, sugerindo que a conversão de Ang II em Ang III é necessária para desencadear antinocicepção (PELEGRINI-DA-SILVA *et al.*, 2009, submetido, PAIN).

Os fragmentos C-terminais da Ang II menores que a Ang III foram tradicionalmente considerados desprovidos de atividade biológica. A descoberta de efeitos mediados pelo receptor da Ang IV mudou este conceito (WRIGHT; HARDING, 2004). A Ang IV seria então o peptídeo-limite biologicamente ativo do RAS, uma vez que por serem muito susceptíveis à degradação, os fragmentos de angiotensina menores que Ang IV seriam biologicamente inativos. Experimentos realizados por nosso grupo mostraram, utilizando o teste de retirada da cauda, que a Ang IV desencadeou efeito antinociceptivo relacionado à dose quando microinjetada na SCPvl, efeito antagonizado pelo divalinal-Ang IV (ROSA *et al.*, 2009, manuscrito em preparação). O passo seguinte seria verificar se peptídeos menores que Ang IV apresentavam efeito antinociceptivo na SCPvl. Peptídeos derivados da

angiotensina com cadeias constituídas por 2 a 6 resíduos de aminoácidos foram microinjetados na SCPvl de rato e tiveram seu efeito antinociceptivo avaliado pelo teste de retirada da cauda. Dos vários peptídeos derivados da angiotensina testados, o menor fragmento que exibiu efeito antinociceptivo pela microinjeção na SCPvl foi a Ang X, o fragmento C-terminal Peptídeo da Ang II.

Considerando a importância do SRA encefálico na mediação da nocicepção modulada pela SCP e alguns dados da literatura que apontam peptídeos derivados da angiotensina menores que Ang IV como desprovidos de atividade biológica decidimos realizar um estudo mais detalhado do efeito antinociceptivo do peptídeo Ang X. Porém, sabe-se que a degradação de peptídeos injetados no SNC é muito rápida, o que torna difícil a avaliação de sua atividade. Assim, foi sintetizado por nosso grupo um análogo da Ang X, o peptídeo RI-58, aparentemente resistente à degradação por peptidases presentes na SCP. O RI-58 também foi estudado visando à compreensão da sua atividade farmacológica na mediação da nocicepção modulada pela SCP.

Conclusões

Em conjunto, nossos resultados e a presente discussão mostram que:

1.A microinjeção da Ang X na SCPvl desencadeia efeito antinociceptivo significativo, relacionado à dose e específico para esta região;

2.O efeito antinociceptivo da Ang X na SCPvl é mediado por receptor de angiotensina, uma vez que a saralasinina foi capaz de bloqueá-lo. Entretanto, os antagonistas dos subtipos AT₁, AT₂, AT₄ e Mas do receptor de angiotensina, losartan, CGP42,112A, divalinal-Ang IV e A-779, respectivamente, não bloquearam o efeito antinociceptivo desencadeado pela Ang X, indicando que a ação deste peptídeo não ocorre pelos subtipos de receptores de angiotensina descritos até o momento;

3.O efeito antinociceptivo da Ang X na SCPvl depende de uma via nNOS-sGC ativa, já que o N^o-propil-L-arginina e o ODQ foram capazes de inibi-lo;

4.O efeito antinociceptivo da Ang X na SCPvl depende da atividade de receptores opióides, uma vez que a naloxona bloqueou este efeito;

5.A microinjeção do RI-58 na SCPvl desencadeia efeito antinociceptivo significativo, relacionado à dose e específico para esta região;

6.O efeito antinociceptivo do RI-58 na SCPvl é mediado por receptor de angiotensina, uma vez que a saralasinina foi capaz de bloqueá-lo. Entretanto, os antagonistas dos subtipos AT₁, AT₂, AT₄ e Mas do receptor de angiotensina, losartan, CGP42,112A, divalinal-Ang IV e A-779, respectivamente, não bloquearam o efeito antinociceptivo desencadeado pelo RI-58, indicando que a ação deste composto não ocorre pelos subtipos de receptores de angiotensina descritos até o momento;

7.O efeito antinociceptivo do RI-58 na SCPvl depende da atividade da nNOS, já que o N^o-propil-L-arginina foi capaz de inibi-lo;

8.O efeito antinociceptivo do RI-58 SCPvl não depende da ativação de receptores opióides, uma vez que a naloxona não bloqueou este efeito.

Referências Bibliográficas

- ABHOLD, R.H.; SULLIVAN, M.J.; WRIGHT, J.W.; HARDING, J.W. Binding, degradation and pressor activity of angiotensins II and III after aminopeptidase inhibition with amastatin and bestatin. **J Pharmacol Exp Ther**, 242, 957-962, 1987.
- ALMEIDA, A.P.; FRABREGAS, B.C.; MADUREIRA, M.M.; SANTOS, R.J.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SANTOS, R.A. Angiotensin-(1-7) potentiates the coronary vasodilatory effect of bradykinin in the isolated rat heart. **Braz J Med Biol Res**, 33, 709-713, 2000
- ALMENOFF, J.; ORLOWSKI, M. Membrane-bound kidney neutral metalloendopeptidase: interaction with synthetic substrates, natural peptides, and inhibitors. **Biochemistry** 22, 590-599, 1983.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; DE CASTRO, M.; ELIAS, L.L.K.; VALENÇA, M.M.; McCANN, S.M. Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism. **Physiol Rev**, 84, 169-208, 2004.
- AZAMI, J.; LLEWELYN, M.B.; ROBERTS, M.H. An extra-fine assembly for intracerebral microinjection. **J Physiol (Lond)**, 303, 18-19, 1980.
- AZAMI, J.; LLEWELYN, M.B.; ROBERTS, M.H. The contribution of nucleus reticularis paragigantocellularis and nucleus raphe magnus to the analgesia produced by sistemically administered morphine, investigated with the microinjection technique. **Pain**, 12, 229-246, 1982.
- BADER, M.; GANTEN, D. Update on tissue renin-angiotensin systems. **J Mol Med**, 86, 615-621, 2008.
- BALTATU, O.; BADER, M. Brain renin-angiotensin system. **Transgenic Models in Neuroendocrinology**, 78, 253-259, 2003.
- BANDLER, R.; CARRIVE, P.; DEPAULIS, A. Emerging principles of organization of the midbrain periaqueductal gray matter. In: **The Midbrain Periaqueductal Gray Matter: Functional, Anatomical, and Neurochemical Organization**. DEPAULIS, A.; BANDLER, R. (Editors). Plenum Press, New York and London, 1-8, 1991.

- BEHBEHANI, M.M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. **Progress in Neurobiology**, 46, 575-605, 1995.
- BEITZ, A.J. Periaqueductal Gray. In: **The Rat Nervous System**. Paxinos, G. (Editor). Second edition. Academic Press, Austrália, 173-182, 1995.
- BESSON, J.M.; CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiological Review**, 67 (1), 67-186, 1987.
- BESSON, J.M.; FARDIN, V.; OLIVÉRAS, J.L. Analgesia produced by stimulation of the periaqueductal gray matter: true antinociceptive effects versus stress effects. In: **The Midbrain Periaqueductal Gray Matter: Functional, Anatomical, and Neurochemical Organization**. DEPAULIS, A.; BANDLER, R. (Editors). Plenum Press, New York and London, 121-138, 1991.
- BICKERTON, R.K.; BUCKLEY, J.P. Evidence for a central mechanism in angiotensin induced hypertension. **Proc Soc Exp Biol Med** 106, 834-837, 1961.
- BRAUN-MENENDEZ, E.; FASCIOLO, J.C.; LELOIR, L.F.; MUNOZ, J.M. The substance causing renal hypertension. **J Physiol (Lond)**, 98, 283–298, 1940.
- CARGILL, C.L.; STEINMAN, J.L.; WILLIS, W.D. A fictive tail-flick reflex in the rat. **Brain Res**, 345, 45-53, 1985.
- CHAN, J.Y.H.; TSAI, H.F.; KUO, T.B.J.; CHAN, S.H.H. Modulation by angiotensin III of nociception-related and arterial pressure-related responsiveness in the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat. **Regul Pept**, 50, 247-257, 1994.
- CHECLER, F.; VINCENT, J.P.; KITABGI, P. Degradation of neurotensin by rat brain synaptic membranes: involvement of a thermolysin-like metalloendopeptidase (enkephalinase), angiotensin-converting enzyme, and other unidentified peptidases. **J Neurochem**, 41, 375-384, 1983.
- CHOREV, M.; GOODMAN, M. Recent developments in retro peptides and proteins – an ongoing topochemical exploration. **Trends Biotechnol**, 13, 438-445, 1995.

- CHU, T.G.; ORLOWSKI, M. Soluble metalloendopeptidase from rat brain: action on enkephalin-containing peptides and other bioactive peptides. **Endocrinology** 116, 1418-1425, 1985.
- CUELLO, A.C.; PRIESTLEY, J.V.; PAXINOS, G. Substance P and enkephalin containing pathways. In: **The Rat Nervous System**, Vol. 1. Paxinos, G. (Editor). Academic Press, Australia, pp. 441-469, 1985.
- DAHMS, P.; MENTLEIN, R. Purification of the main somatostatin-degrading proteases from rat and pig brains, their action on other neuropeptides, and their identification as endopeptidases 24.15 and 24.16. **Eur J Biochem**, 208, 145-154, 1992.
- D'AMOUR, F.E.; SMITH, D.C. A method for determining loss of pain sensation. **J Pharmacol Exper Ther**, 72, 74-79, 1941.
- DE GASPARO, M.; CATT, K.J.; INAGAMI, T., WRIGHT, J.W.; UNGER, T. International Union of Pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Rev** 52:415-472, 2000.
- DE LUCA-VINHAS, M.C.Z.; MACEDO, C.E.; BRANDÃO, M.L. Pharmacological assessment of the freezing, antinociception, and exploratory behavior organized in the ventrolateral periaqueductal gray. **Pain**, 121, 94-104, 2006.
- FANSELOW, M.S. The midbrain periaqueductal gray as a coordinator of action in response to fear and anxiety. In: **The Midbrain Periaqueductal Gray Matter: Functional, Anatomical, and Neurochemical organization**. DEPAULIS, A; BANDLER, R. (Editors). Plenum Press, New York and London, 121-138, 1991.
- FARDIN, V.; OLIVÉRAS, J.L.; BESSON, J.M. A reinvestigation of the analgesic effects induced by stimulation of the periaqueductal gray matter in the rat. I. The production of behavioral side effects together with analgesia. **Brain Research**, 306, 105-123, 1984.
- FAROOK, J.M.; WANG, Q.; MOOCHHALA, S.M.; ZHU, Z.Y.; LEE, L.; WONG, P.T.H. Distinct regions of periaqueductal gray (PAG) are involved in freezing behavior in hooded PVG rats on the cat-freezing test apparatus. **Neuroscience Letters**, 354, 139-142, 2004.

- FELIX, D.; SCHLEGEL, W. Angiotensin receptive neurones in the subfornical organ. Structure-activity relations. **Brain Research**, 149, 107-116, 1978.
- FITZSIMONS, J.T. The effect on drinking of peptide precursors and of shorter chain peptide fragments of angiotensin II injected into the rat's diencephalon. **J Physiol**, 214, 295-303, 1971.
- FÖRSTERMANN, U.; KLEINERT, H. Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. Naunyn Schmiedebergs. **Arch Pharmacol**, 352, 351-364, 1995.
- GAFFORD, J.T.; SKIDGEL, R.A.; ERDOS, E.G.; HERSH, L.B. Human kidney "enkephalinase", a neutral metalloendopeptidase that cleaves active peptides. **Biochemistry**, 22, 3265-3271, 1983.
- GANTEN, D.; MINNICH, J.L.; GRANGER, P.; HAYDUK, K.; BRECHT, H.M.; BARBEAU, A.; BOUCHER, R. GENEST, J. Angiotensin-forming enzyme in brain tissue. **Science**, 173, 64-65, 1971.
- GANTEN, D.; SPECK, G. The brain renin-angiotensin system: a model for the synthesis of peptides in the brain. **Biochem Pharmacol**, 27, 2379-2389, 1978.
- GANTEN, D.; LANG, R.E.; LEHMANN, E.; UNGER, T. Brain angiotensin: on the way to becoming a well-studied neuropeptide system. **Biochem Pharmacol**, 33, 3523-3528, 1984.
- GARTHWAITE, J.; SOUTHAM, E.; BOULTON, C.L.; NIELSEN, E.B.; SCHMIDT, K.; MAYER, B. Potent and selective inhibition of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase by 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one. **Mol Pharmacol**, 48(2), 184-188, 1995.
- GEORGIEVA, D.; GEORGIEV, V. The role of angiotensin II and of its receptor subtypes in the acetic acid-induced abdominal constriction test. **Pharmacol Biochem Behav**, 62, 229-232, 1999.
- GIOIA, M.; BIANCHI, R. The distribution of substance P and Met-enkephalin in the periaqueductal gray matter of the rat. **Basic Appl Histochem**, 32, 103-108, 1988.

- GREENE, L.J.; SPADARO, A.C.; MARTINS, A.R.; PERUSSI DE JESUS, W.D.; CAMARGO, A.C. Brain endo-oligopeptidase B: a post-proline cleaving enzyme that inactivates angiotensin I and II. **Hypertension**, 4:178-184, 1982.
- GUETHE, L.M.; PELEGRINI-DA-SILVA, A.; ROSA, E.; JULIANO, M.A.; PRADO, W.A.; MURAD, F.; MARTINS, A.R. **Angiotensin (5-8), Ile-His-Pro-Phe, can modulate nociception at the periaqueductal gray matter via NO-soluble guanylyl cyclase pathway**. Manuscrito em preparação, 2009.
- HARA, S., KUHNS, E.R.; ELLENBERGER, E.A.; MUELLER, J.L.; SHIBUYA, T.; ENDO, T.; QUOCK, R.M. Involvement of nitric oxide in intracerebroventricular b-endorphin-induced neuronal release of methionine enkephalin. **Brain Res**, 675, 190–194, 1995.
- HARDING, J.W.; SULLIVAN, M.J.; HANESWORTH, J.M.; CUSHING, L.L.; WRIGHT, J.W. Inability of [125I]Sar1,Ile8-angiotensin II to move between the blood and cerebrospinal fluid compartments. **J Neurochem**, 50:554-557, 1988.
- HAULICĂ, I.; NEAMȚU, C.; STRATONE, A.; PETRESCU, G.H.; BRĂNIȘTEANU, D.; ROȘCA, V.; SLĂTINEANU, S. Evidence for the involvement of cerebral renin-angiotensin system (RAS) in stress analgesia. **Pain**, 27, 237-245, 1986.
- HAUSER, W.; JOHREN, O.; SAAVEDRA, J.M. Characterization and distribution of angiotensin II receptor subtypes in the mouse brain. **Eur J Pharmacol**, 348, 101-114, 1998.
- HEDEAGER-SØRENSEN, S.; KENNY, A.J. Proteins of the kidney microvillar membrane. Purification and properties of carboxipeptidase P. **Biochem J**, 229, 251-257, 1985.
- HEEMSKERK, F.M.; SAAVEDRA, J.M. Quantitative autoradiography of angiotensin II AT2 receptors with [125I]CGP 42112. **Brain Res**, 677, 29-38, 1995.
- HERMANN, K.; LANG, R.E.; UNGER, T.; BAYER, C.; GANTEN, D. Combined high-performance liquid chromatography-radioimmunoassay for the characterization and quantitative measurement of neuropeptides. **J Chromatogr**, 312, 273-284, 1984.
- KARAMYAN, V.T.; SPETH, R.C. Enzymatic pathways of the brain renin-angiotensin system: Unsolved problems and continuing challenges. **Regul Pept**, 143, 15-27, 2007.

- KERR, M.A.; KENNY, A.J. The purification and specificity of a neutral endopeptidase from rabbit kidney brush border. **Biochem J**, 137, 477-488, 1974a.
- KERR, M.A.; KENNY, A.J. The molecular weight and properties of a neutral metallo-endopeptidase from rabbit kidney brush border. **Biochem J**, 137, 489-495, 1974b.
- KHOSLA, M.C.; SMEBY, R.R.; BUMPUS, F.M. In: **Angiotensin**. PAGE, I.H.; BUMPUS, F.M. (Editors). Springer, Heidelberg, 126-161, 1974.
- KISS, J.P.; VIZI, E.S. Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. **Trends in Neurosciences**, 24, 211-215, 2001.
- KRAMKOWSKI, K.; MOGIELNICKI, A.; BUCZKO, W. The Physiological significance of the alternative pathways of angiotensin II production. **Journal of Physiology and Pharmacology**, 57 (4), 529-539, 2006.
- KREBS, L.T.; KRAMAR, E.A.; HANESWORTH, J.M.; SARDINIA, M.F.; BALL, A.E.; WRIGHT, J.W.; HARDING, J.W. Characterization of the binding properties and physiological action of divalinal-angiotensin IV, a putative AT4 receptor antagonist. **Regul Pept**, 67, 123-130, 1996.
- LIND, R.W.; SWANSON, L.W.; GANTEN, D. Organization of angiotensin II immunoreactive cells and fibers in the rat central nervous system. **Neuroendocrinology**, 40, 2-24, 1985.
- LIND, W.R.; GANTEN, D. Angiotensin. In: **Handbook of Chemical Neuroanatomy** BJÖRKLUND, A.; HÖKFELT, T.; KUCHAR, M.J. (Editors). Elsevier Science Publishers, B.V., 165-286, 1990.
- LLORENS-CORTES, C.; KORDON, C. Jacques Benoit lecture: the neuroendocrine view of the angiotensin and apelin systems. **J Neuroendocrinol**, 20, 279-289, 2008.
- LOMAX, P. The distribution of morphine following intracerebral microinjection. **Experientia**, 12, 249-250, 1966.
- LOVICK, T.A. Pro-nociceptive action of cholecystokinin in the periaqueductal grey: a role in neuropathic and anxiety-induced hyperalgesic states. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 32, 852-862, 2008.

- MARTINS, A.R.; CALDO, H.; COELHO, H.L.; MOREIRA, A.C.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; GREENE, L.J.; CAMARGO, A.C.M. Screening for rabbit brain neuropeptide-metabolizing peptidases. Inhibition of endopeptidase B by bradykinin potentiating peptide 9a (SQ 20881). **J Neurochem**, 34, 100-107, 1980.
- McKINLEY, M.J.; ALBISTON, A.L.; ALLEN, A.M.; MATHAI, M.L.; MAY, C.N.; MCALLEN, R.M.; OLDFIELD, B.J.; MENDELSON, F.A.O.; CHAI, S.Y. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 35, 901-918, 2003.
- MENTLEIN, R.; ROOS, T. Proteases involved in the metabolism of angiotensin II, bradykinin, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and neuropeptide Y by vascular smooth muscle cells. **Peptides**, 17, 709-720, 1996.
- MERABET, L.; DE GASPARO, M; CASANOVA, C. Dose-dependent inhibitory effects of angiotensin II on visual responses of the rat superior colliculus: AT1 and AT2 receptor contributions. **Neuropeptides**, 31(5), 469-81, 1997.
- MILLAN, M.J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, 66, 355–474, 2002.
- MITSUI, T.; KAKIZAKI, H.; MATSUURA, S.; TANAKA, H.; YOSHIOKA, M.; KOYANAGI, T. Chemical bladder irritation provokes c-fos expression in the midbrain periaqueductal gray matter of the rat. **Brain Res**, 967, 81-88, 2003.
- MOFFETT, R.B.; BUMPUS, F.M.; HUSAIN, A. Cellular organization of the brain renin-angiotensin system. **Life Sci**, 41, 1867-1879, 1987.
- MONHEMIUS, R; GREEN, D.L.; ROBERTS, M.H.; AZAMI, J. Periaqueductal grey mediated inhibition of responses to noxious stimulation is dynamically activated in a rat model of neuropathic pain. **Neurosci Lett**, 298, 70-74, 2001.
- MORGAN, M.M.; DEPAULIS, A.; LIEBESKIND, J.C. Diazepam dissociates the analgesic and aversive effects of periaqueductal gray stimulation in the rat. **Brain Res**, 423, 395-398, 1987.
- MORGAN, M.M.; WHITNEY, P.K. Immobility accompanies the antinociception mediated by the rostral ventromedial medulla of the rat. **Brain Research**, 872, 276-281, 2000.

- MORGAN, M.M.; CARRIVE, P. Activation of the ventrolateral periaqueductal gray reduces locomotion but not mean arterial pressure in awake, freely moving rats. **Neuroscience**, 102, 905-910, 2001.
- MURAD, F. Regulation of cytosolic guanylyl cyclase by nitric oxide: the NO-cGMP signal transduction system. **Adv Pharmacol**, 26, 19-33, 1994.
- ORLOWSKI, M.; MICHAUD, C.; CHU, T.G. A soluble metalloendopeptidase from rat brain. Purification of the enzyme and determination of specificity with synthetic and natural peptides. **Eur J Biochem**, 135, 81-88, 1983.
- PAGE, I.H.; HELMER, O.M. A crystalline pressor substance (angiotonin) resulting from the action between renin and renin-activator. **J Exp Med**, 71, 29-42, 1940.
- PATEL, J.M.; MARTENS, J.R.; LI, Y.D.; GELBAND, C.H.; RAIZADA, M.K.; BLOCK, E.R. Angiotensin IV receptor-mediated activation of lung endothelial NOS is associated with vasorelaxation. **Am J Physiol**, 275, 1061-1068, 1998.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Compact third edition. Academic Press, San Diego, 1997.
- PEACH, M. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanism of action. **Physiol Rev**, 57, 313-370, 1977.
- PELEGRINI-DA-SILVA, A.; MARTINS, A.R.; PRADO, W.A. A new role for the renin-angiotensin system in the rat periaqueductal gray matter: angiotensin receptor-mediated modulation of nociception. **Neuroscience**, 132, 453-463, 2005.
- PELEGRINI-DA-SILVA, A.; ROSA, E.; GUETHE, L.M.; ROSA, J.C.; JULIANO, M.A.; PRADO, W.A.; MARTINS, A.R. **Endogenous angiotensin III can modulate the nociceptive control mediated by the periaqueductal gray matter**. Manuscrito em preparação, 2009.
- PHILLIPS, M.I.; MANN, J.F.; HAEBARA, H.; HOFFMAN, W.E.; DIETZ, R.; SCHELLING, P.; GANTEN, D. Lowering of hypertension by central saralasin in the absence of plasma renin. **Nature**, 270, 445-447, 1977.

- PRADO, W.A.; ROBERTS, M.H.T. An assessment of the antinociceptive and aversive effects of stimulating identified sites in the rat brain. **Brain Res**, 340, 219-228, 1985.
- PRADO, W.A.; SCHIAVON, V.F.; CUNHA, F.Q. Dual effect of local application of nitric oxide donors in a model of incision pain in rats. **European Journal of Pharmacology**, 441, 57-65, 2002.
- PRADO, W.A.; PELEGRINI-DA-SILVA, A.; MARTINS, A.R. Microinjection of renin-angiotensin system peptides in discrete sites within the rat periaqueductal gray matter elicits antinociception. **Brain Res**, 972, 207-215, 2003.
- PRINTZ, M.P. Regulation of the brain angiotensin system: a thesis of multicellular involvement. **Clin Exp Hypertens A**, 10, 17-35, 1988.
- PUTNEY, J.W., Jr. Pharmacology of capacitative calcium entry. **Mol Interv**, 1, 84-94, 2001.
- RAGHAVENDRA, V.; CHOPRA, K.; KULKARNI, S.K. Brain renin angiotensin system (RAS) in stress-induced analgesia and impaired retention. **Peptides**, 20, 335-342, 1999.
- REAUX, A.; FOURNIE-ZALUSKI, M.C.; LLORENS-CORTES, C. Angiotensin III: a central regulator of vasopressin release and blood pressure. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 12 (4), 157-162, 2001.
- REGOLI, D.; PARK, W.K.; RIOUX, F. Pharmacology of angiotensin. **Pharmacol Rev**, 26, 69-123, 1974.
- REYNOLDS, D.V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science**, 164, 444-445, 1969.
- 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.
- RIOLI, V.; KATO, A.; PORTARO, F.C.; CURY, G.K.; te KAAAT, K.; VINCENT, B.; CHECLER, F.; CAMARGO, A.C.; GLUCKSMAN, M.J.; ROBERTS, J.L.; HIROSE, S.; FERRO, E.S. Neuropeptide specificity and inhibition of recombinant isoforms of the endopeptidase 3.4.24.16 family: comparison with the related recombinant endopeptidase 3.4.24.15. **Biochem Biophys Res Commun**, 250, 5-11, 1998.

- RODELLA, L.; REZZANI, R.; AGOSTINI, C.; BIANCHI, R. Induction of NADPH-diaphorase activity in the rat periaqueductal gray matter after nociceptive visceral stimulation. **Brain Research**, 793, 333-336, 1998.
- ROSA, E.; GUETHE, L.M.; PELEGRINI-DA-SILVA, A.; MARTINS, A.R.; PRADO, W.A. **Antinociceptive effect of Ang IV and Ang (1-7) in the periaqueductal gray matter.** Manuscrito em preparação, 2009.
- SANDKUHLER, J.; TREIER, A.C.; LIU, X.G.; OHNIMUS, M. The massive expression of c-fos protein in spinal dorsal horn neurons is not followed by long-term changes in spinal nociception. **Neuroscience**, 73, 657-666, 1996.
- SANTOS, R.A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; BARACHO, N.C.; FONTES, M.A.; SILVA, L.C.; NEVES, L.A.; OLIVEIRA, D.R.; CALIGIORNE, S.M.; RODRIGUES, A.R.; GROPEN, J.C. Characterization of a new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): evidence that the actions of angiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptors. **Brain Res Bull**, 35, 293-298, 1994.
- SANTOS, R.A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; ANDRADE, S.P. Angiotensin-(1-7): an update. **Regul Pept**, 91, 45-62, 2000.
- SANTOS, R.A.; SIMOES E SILVA, A.C.; MARIC, C.; SILVA, D.M.; MACHADO, R.P.; de BUHR, I.; HERINGER-WALTHER, S.; PINHEIRO, S.V.; LOPES, M.T.; BADER, M.; MENDES, E.P.; LEMOS, V.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SCHULTHEISS, H.P.; SPETH, R.; WALTHER, T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 100, 8258-8263, 2003.
- SANTOS, R.A.; FERREIRA, A.J.; SIMOES E SILVA, A.C. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis. **Exp Physiol**, 93, 519-527, 2008.
- SEGAL, M.; MANOR, D. Confocal microscopic imaging of $[Ca^{2+}]_i$ in cultured rat hippocampal neurons following exposure to Nmethyl-D-aspartate. **J Physiol**, 448, 655-676, 1992.

- SHIMAMURA, M.; KAWAMUKI, K.; HAZATO, T. Angiotensin III: A potent inhibitor of Enkephalin-degrading enzymes and an analgesic agent. **J Neurochem**, 24, 536-540, 1987.
- SIM, M.K. Degradation of angiotensin I in the endothelium and smooth muscle of the rat aorta. **Biochem Pharmacol**, 45, 1524-1527, 1993.
- SIM, M.K.; CHOO, M.H.; QIU, X.S. Degradation of angiotensin I to [des-Asp¹]angiotensin I by a novel aminopeptidase in the rat hypothalamus. **Biochem Pharmacol**, 48, 1043-1046, 1994.
- SIM, M.K.; QIU, X.S. Formation of des-Asp-angiotensin I in the hypothalamic extract of normo- and hypertensive rats. **Blood Press**, 3, 260-264, 1994.
- SINGH, V.P.; LE, B.; BHAT, V.B.; BAKER, K.M.; KUMAR, R. High-glucose-induced regulation of intracellular ANG II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 293, H939-H948, 2007.
- SINGH, V.P.; BAKER, K.M.; KUMAR, R. Activation of the intracellular renin-angiotensin system in cardiac fibroblasts by high glucose: role in extracellular matrix production. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 294, H1675-H1684, 2008.
- SOUSA, A.M.; PRADO, W.A. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. **Brain Research**, 897, 9-19, 2001.
- SWANSON, G.N.; HANESWORTH, J.M.; SARDINIA, M.F.; COLEMAN, J.K.; WRIGHT, J.W.; HALL, K.L.; MILLER-WING, A.V.; STOBBS, J.W.; COOK, V.I.; HARDING, E.C. Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3-8), a putative angiotensin IV receptor. **Regul Pept**, 40, 409-419, 1992.
- TIMMERMANS, P.B.M.W.; PANCRAS, C.W.; CHIU, A.T.; HERBLIN, W.F.; BENFIELD, P.; CARINI, D.J.; LEE, R.J.; WEXLER, R.R.; SAYE, J.M.; SMITH, R.D. Angiotensin II Receptors and Angiotensin II Receptor Antagonists. **Pharmacol Review**, 45 (2), 205-251, 1993.

- TONNAER, J.A.; WIEGANT, V.M.; DE JONG, W.; DE WIED, D. Central effects of angiotensins on drinking and blood pressure: structure-activity relationships. **Brain Res**, 236, 417-428, 1982.
- VIANNA, D.M.; GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Defensive freezing evoked by electrical stimulation of the periaqueductal gray: comparison between dorsolateral and ventrolateral regions. **Neuroreport**, 21, 4109-4112, 2001.
- VICKERS, C.; HALES, P.; KAUSHIK, V.; DICK, L.; GAVIN, J.; TANG, J.; GODBOUT, K.; PARSONS, T.; BARONAS, E.; HSIEH, F.; ACTON, S.; PATANE, M.; NICHOLS, A.; TUMMINO, P. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. **J Biol Chem**, 277, 14838-14843, 2002.
- von BOHLEN und HALBACH, O. Angiotensin IV in the central nervous system. **Cell Tissue Res**, 311, 1-9, 2003.
- von BOHLEN und HALBACH, O. The Renin-Angiotensin System in Mammalian Central Nervous System. **Curr Protein Pept Sci**, 6 (4), 355-71, 2005.
- von BOHLEN und HALBACH, O.; ALBRECHT, D. The CNS renin-angiotensin system. **Cell Tissue Res**, 326, 599-616, 2006.
- WANG, Q.P.; NAKAI, Y. The dorsal raphe: an important nucleus in pain modulation. **Brain Res Bull**, 34, 575-585, 1994.
- WILK, S. Prolyl endopeptidase. **Life Sci**, 33, 2149-2157, 1983.
- WILK, S.; WILK, E.; MAGNUSSON, P.P. Purification, characterization and cloning of a cytosolic aspartyl aminopeptidase. **J Biol Chem**, 273, 15961-15970, 1998.
- WILSON, W.L.; ROQUES, B.P.; LLORENS-CORTES, C.; SPETH, R.C.; HARDING, J.W.; WRIGHT, J.W. Roles of brain angiotensins II and III in thirst and sodium appetite. **Brain Res**, 1060 (1-2), 108-117, 2005.
- WOOD, J.; GARTHWAITE, J. Models of the diffusional spread of nitric oxide: implications for neural nitric oxide signalling and its pharmacological properties. **Neuropharmacology**, 13, 1235-1244, 1994.

- WRIGHT, J.W.; KREBS, L.T.; STOBBS, J.W.; HARDING, J.W. The angiotensin IV system: functional implications. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 16, 23-52, 1995.
- WRIGHT, J.W.; HARDING, J.W. Important roles for angiotensin III and IV in the brain renin-angiotensin system. **Brain Res**, 25, 96-124, 1997.
- WRIGHT, J.W.; REICHERT, J.R.; DAVIS, C.J.; HARDING, J.W. Neural plasticity and the brain renin-angiotensin system. **Neurosci Biobehav Rev**, 26, 529-552, 2002.
- WRIGHT, J.W.; HARDING J.W. The brain angiotensin system and extracellular matrix molecules in neural plasticity, learning, and memory. **Prog Neurobiol**, 72, 263-293, 2004.
- WRIGHT, J.W.; YAMAMOTO, B.J.; HARDING, J.W. Angiotensin receptor subtype mediated physiologies and behaviors: new discoveries and clinical targets. **Prog Neurobiol**, 84, 157-181, 2008.
- YAN, C.; KIM, D.; AIZAWA, T.; BERK, B.C. Functional interplay between angiotensin II and nitric oxide: cyclic GMP as a key mediator. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 23, 26-36, 2003.
- YIEN, H.W.; CHAN, J.Y.H.; TSAI, H.F.; LEE, T.Y.; CHAN, S.H.H. Participation of nucleus reticularis gigantocellularis in the antinociceptive effect of angiotensin III in the rat. **Neuroscience Letters**, 159, 9-12, 1993.
- ZHANG, H.Q.; FAST, W.; MARLETTA, M.A.; MARTASEK, P.; SILVERMAN, R.B. Potent and selective inhibition of neuronal nitric oxide synthase by N ω -propyl-L-arginine. **J Med Chem**, 40(24), 3869-3870, 1997.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. **Pain**, 16, 109-110, 1983.
- ZINI, S.; FOURNIE-ZALUSKI, M.C.; CHAUVEL, E.; ROQUES, B.P.; CORVOL, P.; LLORENS-CORTES, C. Identification of metabolic pathways of brain angiotensin II and III using specific aminopeptidase inhibitors: predominant role of angiotensin III in the control of vasopressin release. **Proc Natl Acad Sci USA**, 93, 11968-11973, 1996.

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](#)