CINTHYA ECHEM

PARTICIPAÇÃO DO TLR4 NO PROCESSO DE REMODELAMENTO CARDÍACO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS - SHR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Catelli de Carvalho

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2012

RESUMO

ECHEM, C. **Participação do TLR4 no processo de remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos - SHR**. 2012. 64 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O remodelamento cardíaco é uma sequela comum da hipertensão arterial (HA). Sabe-se que na HA há presença de processo inflamatório crônico de baixa intensidade e que este pode contribuir para o desenvolvimento e progressão do remodelamento cardíaco. Receptores do tipo Toll (TLRs) são receptores da imunidade inata, cuja ativação induz a produção de moléculas inflamatórias. Estudos recentes relacionam TLRs e doenças cardiovasculares, evidenciando principalmente o TLR4, entretanto pouco se sabe sobre sua participação no remodelamento cardíaco. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a participação do TLR4 no processo de remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos - SHR. Para isso, foram utilizados ventrículos esquerdos de SHR e Wistar com 6 e 21 semanas de idade. Primeiramente observamos que com o desenvolvimento da HA há aumento nos níveis cardíacos de TLR4, pois SHR com 21 semanas (hipertensos) apresentam maiores níveis de RNAm do TLR4 em relação aos dos SHR com 6 semanas (pré-hipertensos) e dos Wistar com 6 e 21 semanas de idade (normotensos). Tendo isto em vista, em outro grupo experimental animais SHR e Wistar com 19 semanas de idade foram tratados com anticorpo anti-TLR4, por quinze dias via intraperitoneal, com o intuito de bloquear a ativação deste receptor. Animais SHR e Wistar controles foram tratados com anticorpo IgG inespecífico, com o intuito de descartar qualquer ação inespecífica do anticorpo anti-TLR4. Após o tratamento com anti-TLR4, observamos que houve redução da área e do diâmetro dos cardiomiócitos, bem como da deposição de colágeno em ventrículo esquerdo dos SHR tratados com anti-TLR4 em relação aos SHR IgG, no entanto, nenhuma alteração foi observada entre os animais Wistar tratados com anti-TLR4 e com IgG. Observamos também que não houve nenhuma alteração nos valores pressóricos após o tratamento com anti-TLR4. É importante ressaltar que em virtude desses resultados acima descritos não serem observados em Wistar, foi avaliada somente a sinalização envolvida na redução do remodelamento cardíaco em SHR, uma vez que estes animais não apresentaram redução nos níveis pressóricos após tratamento com anti-TLR4. Desta forma, observamos que após tratamento com anti-TLR4, animais SHR apresentaram redução nos níveis de RNAm dos marcadores de hipertrofia cardíaca ANP (peptídeo natriurético atrial), BNP (peptídeo natriurético cerebral) e α-actina esquelética, bem como dos colágenos tipo I e III e das metaloproteinases 2 e 9 em relação aos SHR IgG. Além disso, observamos também redução nos níveis de RNAm e expressão protéica do TLR4 e MyD88, bem como da expressão protéica das citocinas pró-inflamatórias TNF-α e IL-1β dos SHR anti-TLR4 em relação aos SHR IgG. Esses resultados em conjunto sugerem que os TLR4 participam diretamente do remodelamento ventricular esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos - SHR adultos.

Palavras-chave: Hipertensão arterial. Remodelamento cardíaco. Receptores do tipo Toll 4.

ABSTRACT

ECHEM, C. **Role of TLR4 in cardiac remodeling process of spontaneously hypertensive rats - SHR**. 2012. 64 p. Master thesis (Farmacology). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The cardiac remodeling is a common consequence of hypertension. It is known that in hypertension there is a chronic inflammation which contributes to the development of cardiac remodeling process. Toll-like receptors (TLRs) are innate immunity receptors and its activation induces production of inflammatory molecules. Recent studies showed the involvement of TLRs in cardiovascular disease development, especially TLR4, however the involvement in cardiac remodeling is unknown. Therefore, the aim of this study was to evaluate the involvement of TLR4 in the cardiac remodeling process of spontaneously hypertensive rats - SHR. For this, the left ventricles were removed from SHR and Wistar with 6 and 21 weeks-old. It was demonstrated that with development of hypertension an increase in the cardiac levels of TLR4 was observed in adults SHR 21 weeks-old (hypertensive) related to SHR 6 weeks-old (pré-hypertensive) and Wistar 6 and 21 weeks-old (normotensive). In order to block the activation of TLR4, SHR and Wistar with 19 weeks-old were treated with anti-TLR4 antibody, for fifteen days intraperitoneal. In another set of experiments SHR and Wistar adult rats were treated with nonspecific IgG antibody to rule out any nonspecific actions of anti-TLR4 antibody. A reduction of area and cardiomyocyte diameter and collagen deposition in the left ventricle of SHR were observed after anti-TLR4 treatment compared to SHR IgG, however no change was observed in Wistar rats. It was also demonstrated that anti-TLR4 treatment has no effect on the adults SHR blood pressure. Is important to note that the signaling involved in the reduction of cardiac remodeling was evaluated only in adults SHR. A reduction in mRNA levels of ANP (atrial natriuretic peptide), BNP (brain natriuretic peptide) and α-skeletal actin, a cardiac hypertrophy markers, as well as collagen type I and III and metalloproteinases 2 and 9 were observed after SHR anti-TLR4 treatment. Furthermore, it also observed a reduction in the mRNA levels and protein expression of TLR4 and MyD88, as well as the protein expression of proinflammatory cytokines TNF-α and IL-1β in adults SHR after anti-TLR4 treatment. Taking all together, these results allow us suggest that TLR4 is involved in the left ventricular remodeling of adults spontaneously hypertensive rats - SHR.

Keywords: Hypertension. Cardiac remodeling. Toll like receptor 4.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão arterial e remodelamento cardíaco

A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial de alta prevalência, caracterizada por elevados e sustentados níveis de pressão arterial (PA), com pressão diastólica maior ou igual a 90 mmHg e pressão sistólica maior ou igual a 140 mmHg (1, 2). Cerca de um quarto da população adulta, ou seja, aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo são hipertensas e estima-se que até 2025 ocorra aumento de até 29% na prevalência desta condição (3).

Quando crônica, a HA está associada a alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, tais como, coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos, contribuindo assim, para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs). Sendo assim, é importante ressaltar que além de uma alta prevalência, a HA é considerada um dos principais problemas de saúde pública, pois a mortalidade por DCVs aumenta progressivamente com o aumento da PA. No Brasil, as DCVs têm sido consideradas as principais causas de morte, como exemplo, em 2007 mais de 300 mil óbitos foram atribuídos a doenças do aparelho circulatório (1). As DCVs são responsáveis também por alta frequência de internações, cujos custos médicos e socioeconômicos são bastante elevados. Em 2007 foram registradas mais de 1 milhão de internações por DCVs no Sistema Único de Saúde (SUS) e em novembro de 2009 foram gastos mais de R$ 165 milhões devido a estas internações (4).

Dentre os fatores envolvidos na fisiopatogênese da HA, grande parte é atribuída a fatores genéticos, porém até o presente momento ainda não há variantes genéticas que possam ser utilizadas para prever o risco individual de desenvolvimento de HA. Sendo assim, a HA primária ou essencial, acomete aproximadamente 95% da população hipertensa. Dentre os modelos animais de HA, os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) são os que mais se aproximam da HA primária encontrada no homem. Estes animais, à partir de 6 semanas de idade, começam a desenvolver um quadro hipertensivo e com o desenvolvimento da HA, estes animais desenvolvem também um progressivo quadro de remodelamento cardíaco (1, 5-7).

O remodelamento cardíaco é uma sequela comum da HA, sendo que este é inicialmente um mecanismo adaptativo do coração em resposta ao aumento de sua

atividade, da sobrecarga funcional ou do estresse da parede ventricular, com o objetivo de manter a função cardíaca, porém a cronicidade desse processo consiste em um importante risco de morbidade e mortalidade cardiovascular por acarretar em arritmias ventriculares e insuficiência cardíaca (7-9).

O processo de remodelamento cardíaco está associado à disfunção cardíaca e por muito tempo esta disfunção foi associada a alterações miocárdicas, no sentindo de encontrar nos miócitos todas as explicações para a disfunção ventricular, porém com o desenvolvimento de estudos observou-se a participação de outros componentes neste processo. Sendo assim, a disfunção ventricular deixou de ser associada exclusivamente ao crescimento muscular e passou a ser atribuída ao conjunto de alterações envolvendo os compartimentos muscular, vascular e intersticial, com hipertrofia dos cardiomiócitos, fibrose perivascular, fibrose intersticial e modificações de padrões de expressões gênicas, moleculares e celulares que se manifestam clinicamente com alterações do tamanho, peso, forma e/ou função do coração após uma injúria (10, 11).

Os miócitos cardíacos são células com capacidade de divisão muito restrita na vida adulta. Estima-se que no recém-nascido até 2% dos miócitos sejam capazes de se dividir, porém ao final do primeiro mês de vida, menos de 1% dos miócitos mantém esta capacidade, ocorrendo o que é denominado de perda do potencial proliferativo, sendo assim, o aumento de massa miocárdica em doenças cardíacas se dá pela hipertrofia (12, 13).

De modo geral, a hipertrofia cardíaca pode ser considerada como concêntrica ou excêntrica. A sobrecarga pressórica desencadeia a hipertrofia concêntrica, que é caracterizada por aumento da espessura das paredes ventriculares, redução dos diâmetros cavitários e adição de sarcômeros em paralelo, o que leva ao aumento do diâmetro e da área total dos cardiomiócitos (7).

A síntese protéica é imprescindível para que ocorra a hipertrofia ventricular. O aumento do estresse na parede cardíaca é provavelmente o principal mecanismo desencadeador de síntese protéica. Na célula, o estresse da parede é representado pelo estiramento do sarcômero, pelo aumento da tensão na superfície celular e pela ativação de receptores de membrana, sendo que a partir destes estímulos, ocorre a promoção de diversos sinais intracitoplasmáticos, que traduzem a mensagem de estiramento em síntese protéica e multiplicação de organelas celulares (13).

Uma das primeiras modificações celulares presentes na hipertrofia cardíaca é a síntese de mitocôndrias, provavelmente para fornecer maior quantidade de energia para o tecido em crescimento. Além disso, a sobrecarga hemodinâmica reativa genes de proteínas contráteis e não contráteis presentes no coração fetal, mas sem expressão no coração adulto normal, como a alfa actina esquelética, o peptídeo natriurético atrial (ANP) e o peptídeo natriurético cerebral (BNP) (11, 13, 14).

De modo geral, esses genes participam da homeostase cardiovascular e modulam o crescimento celular no coração fetal, porém a razão para o aumento de suas expressões no coração adulto ainda não é totalmente esclarecida, mas suspeita-se que o retorno ao padrão fetal possa ser explicado por sua maior resistência à hipóxia celular, pois tanto no coração hipertrofiado como no coração fetal, os cardiomiócitos toleram baixas tensões de oxigênio. Sendo assim, esses genes são amplamente utilizados como marcadores de hipertrofia cardíaca (13).

Os peptídeos natriuréticos (PNs) induzem a vasodilatação, aumentam a diurese e inibem a produção de renina e aldosterona, possuindo assim, papel importante na regulação da pressão arterial e volume sanguíneo (15). O ANP representa cerca de 98% dos peptídeos natriuréticos presentes na circulação e é sintetizado principalmente pelo átrio, já o BNP principalmente pelos ventrículos (15, 16). No coração adulto normal, o ventrículo produz apenas uma pequena concentração desses peptídeos, porém uma maior concentração é produzida em corações submetidos a estresse miocárdico e/ou hipertensão arterial (16).

Apesar dos miócitos representarem 75% do volume celular miocárdico, o número de células é pequeno quando comparado ao número de fibroblastos, que representam mais de 70% do número de células no coração. Além disto, este tecido é composto também por outras estruturas, como vasos, nervos, substâncias amorfas e tecido conectivo, sendo este último composto principalmente por colágeno. (7, 11, 17). Estudos mostram que há associação direta entre a intensidade de deposição de colágeno miocárdico e o peso de corações hipertrofiados, sugerindo que a fibrose é mais pronunciada quanto mais intensa for a hipertrofia cardíaca (7, 18).

No coração pode-se encontrar os colágenos tipo I, III, IV, V e VI, sendo que os colágenos tipo I e III representam os principais colágenos cardíacos. O colágeno tipo I constitui cerca de 80% do colágeno cardíaco, é o mais rígido de todos e o principal responsável pela rigidez da câmara cardíaca como um todo. Já o colágeno tipo III constitui cerca de 12% do colágeno cardíaco, formando agregados mais finos do

que o tipo I e exercendo papel importante na manutenção do alinhamento dos feixes de miócitos (7).

A quantidade de colágeno na matriz cardíaca depende do equilíbrio entre síntese e degradação, sendo que a degradação dessas estruturas ocorre pela ação de enzimas do grupo das metaloproteinases (MMPs) (7). Estas enzimas encontram-se na forma inativa, podendo ser ativadas por diversos estímulos, como mecânicos, isquêmicos ou moleculares, como angiotensina II, endotelina 1, catecolaminas, fator de necrose tumoral (TNF-α), interleucina 1 (IL-1), dentre outros (19).

As MMPs desenvolvem papel importante em processos fisiológicos, como embriogênese, angiogênese, metástase, inflamação, artrites, além da capacidade de remodelamento da matriz extracelular (20, 21). A ativação dessas enzimas e consequente quebra da rede de colágeno interfibrilar podem ter inúmeras consequências na arquitetura e função ventricular (19). Sendo assim, tanto o aumento da deposição do colágeno, como o aumento de sua degradação, implicam em disfunção ventricular (11, 22, 23).

1.2 Remodelamento cardíaco e inflamação

Estudos demonstram que há forte relação entre HA, DCVs e processo inflamatório (24, 25). De fato, diversos estudos envolvendo tanto pacientes, quanto animais hipertensos têm demonstrado que estes possuem níveis plasmáticos aumentados de algumas moléculas inflamatórias, como proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral (TNF-α), interleucinas 1 (IL-1), 6 (IL-6) e 8 (IL-8), moléculas de adesão vascular (VCAM-1) e intercelular (ICAM-1), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), angiotensina II, proteínas do choque térmico 60 (HSP60) e 70 (HSP70), aumento de espécies reativas de oxigênio e ativação do fator de transcrição nuclear kappa-B (NF-κB), dentre outras (25).

Em condições normais, as células reconhecem a presença de injúria e ativam o sistema imune, que imediatamente ativa uma resposta inflamatória. Esta resposta inflamatória visa remover células mortas e restos de matriz, além de reparar danos teciduais através da fibrogênese ou regeneração tecidual, restaurando as estruturas e funções originais dos órgãos (26, 27). Apesar disso, a resposta inflamatória prolongada induz a deposição de matriz extracelular e crescimento de tecido granular e conectivo, o que pode ser deletério para o órgão (25).

No coração, a HA pode causar injúria cardíaca, acarretando em infiltração de células inflamatórias, sendo elas os neutrófilos, macrófagos e monócitos. O aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF-α e diminuição das anti-inflamatórias como a interleucina 10 (IL-10) gera estresse oxidativo que consequentemente ativa a apoptose celular e degradação da rede de colágeno miocárdico. Além disso, o aumento da liberação de citocinas pró-fibróticas como o TGF-β (fator de transformação do crescimento), acarreta em estimulação de fibroblastos e miofibroblastos que medeiam a síntese e deposição de colágeno, contribuindo assim, para o desenvolvimento de fibrose cardíaca (28, 29). É importante ressaltar que tanto o aumento da deposição do colágeno, como o aumento de sua degradação, implicam em disfunção ventricular. Além disso, já foi descrito também que fragmentos de colágeno podem exercer potentes efeitos pró-inflamatórios (11, 22, 23, 30).

O processo inflamatório pode contribuir também para o desenvolvimento e progressão de outras DCVs, como aterosclerose, insuficiência cardíaca (IC), infarto do miocárdio (IM), angina, miocardite, dentre outras (31-35). Há evidências de que a inflamação está envolvida com o desenvolvimento e progressão da aterosclerose, pois inicialmente há recrutamento local de monócitos e macrófagos para quebra da placa de ateroma, porém isso gera quadro inflamatório que quando crônico pode ser prejudicial para o tecido (36). Estudos demonstram também que há correlação positiva entre os níveis de moléculas pró-inflamatórias, como PCR, IL-1β, IL-6 e TNF-α, com o grau de IC (37-41).

Diversos estímulos podem acarretar na produção de citocinas pró-inflamatórias. Elas são produzidas principalmente por macrófagos e células T, porém podem também serem produzidas por outras células inflamatórias, bem como por células vasculares, cardiomiócitos e adipócitos. Embora a quantidade e a função das citocinas pró-inflamatórias sejam diversas, muitas partilham mecanismo de ativação comum, pois são produzidas na forma inativa, sofrem clivagem enzimática e tornam-se ativas, podendo regular a expressão e função de proteínas, como moléculas de adesão, componentes da matriz extracelular e fatores de crescimento (25, 42). Além disso, podem ativar proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) e fatores de transcrição como o NF-κB, levando a ativação de diversos genes que culminam na produção de mais citocinas pró-inflamatórias, espécies reativas de oxigênio, fatores de crescimento, dentre outros (25).

Sendo assim, as citocinas pró-inflamatórias exercem papel importante no processo de remodelamento cardíaco. Como exemplo, as citocinas TNF-α e IL-1β contribuem não somente para a disfunção ventricular e apoptose de cardiomiócitos, mas desenvolvem possuem papel fundamental no remodelamento da matriz extracelular, pois regulam a função de fibroblastos cardíacos, influenciando a síntese de colágeno e fibronectina, além de regularem também o sistema de degradação de matriz extracelular, por influenciarem a síntese de MMPs (metaloproteinases) e TIMPs (inibidores teciduais de metaloproteinases) (32, 43-48).

O TNF-α pode ser produzido por células miocárdicas, sendo assim, ele é uma das principais citocinas pró-inflamatórias estudadas em doenças cardíacas (49, 50). Existem dois receptores de TNF-α, o TNFR1 e o TNFR2, que possuem efeitos opostos em relação ao remodelamento cardíaco, hipertrofia miocárdica, ativação de NF-κB, inflamação e apoptose. Tais efeitos são desencadeados via ativação do TNFR1, enquanto o TNFR2 parece inibí-los (51).

Sendo assim, trabalhos experimentais observaram a presença de dilatação ventricular e alterações na composição do colágeno cardíaco em modelos com superexpressão de TNF-α (52). Além disso, já foi descrito que o tratamento com IL-10 recombinante (citocina anti-inflamatória) inibe a inflamação dependente da ativação do TNF-α e o estresse oxidativo, reduzindo o processo de remodelamento cardíaco e a disfunção ventricular em modelo de IC em camundongos (53).

Dados recentes demonstraram que pacientes com início de IC e IM, possuem níveis elevados de TNF-α e que isso está correlacionado com a taxa de mortalidade desses pacientes (54, 55). A superexpressão de TNF-α ou a infusão de TNF-α recombinante em ratos resulta em disfunção cardíaca com sintomas que mimetizam a IC em humanos, sendo que nestes animais, o processo de remodelamento cardíaco é influenciado pelo aumento da atividade de MMPs (56-59).

A síntese de MMPs pode ser estimulada por diversas moléculas, como IL-1β, IL-6, angiotensina II, endotelina-1 e fatores de crescimento (43, 44, 60-62). Já foi demonstrado também que o BNP e o estresse oxidativo são capazes de induzir a síntese de MMPs em quadros de remodelamento cardíaco (63, 64). Em condições normais elas são expressas em cardiomiócitos, bem como no endotélio, em células do músculo liso vascular e fibroblastos, porém em resposta ao processo inflamatório, podem também ser expressas pela infiltração de macrófagos e linfócitos (21, 65).

O aumento na atividade das MMPs está associado com diversos estados patológicos, incluindo infiltração de células tumorais, metástase, doenças fibróticas, artrites e inflamação (21). As MMP2 e MMP9 (gelatinases A e B) possuem papéis importantes em doenças cardiovasculares, como HA, aterosclerose, aneurisma, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, isquemia cardíaca, IC, hipertrofia cardíaca, dentre outras, sendo que a ativação miocárdica de ambas está associada com degradação da rede de colágeno e dilatação do ventrículo esquerdo, comprometendo desta forma a função sistólica (20, 66, 67).

Estudos recentes demonstraram que a superexpressão de MMP2 modula diretamente o remodelamento e disfunção ventricular, independente da presença de injúria adicional (68, 69). Além disso, animais knockout para MMP2 desenvolveram hipertrofia cardíaca menos severa após coarctação de aorta em relação ao grupo controle (70). Sendo assim, o aumento de MMPs, principalmente da MMP2, está relacionado com a fisiopatologia da disfunção e remodelamento cardíaco (71).

Outra molécula estudada na HA é o NF-κB, cuja ativação resulta na regulação de moléculas de adesão, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Normalmente, as células após injúria iniciam um processo inflamatório, sendo este decorrente principalmente da ativação da via do NF-κB (72). Diversos estímulos podem ativar este fator de transcrição, como citocinas pró-inflamatórias, proteína kinase C e principalmente através de espécies reativas de oxigênio. Após ativação, o NF-κB migra até o núcleo celular, onde regula a transcrição de diversos genes envolvidos na patogênese de lesões inflamatórias, como IL-6, TNF-α, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, dentre outras, todas envolvidas no recrutamento de monócitos e macrófagos para o local da injúria (73).

Foi observado que a expressão do NF-κB está aumentada em pacientes e animais hipertensos, como os SHR, estando associada ao aumento da atividade de MMP2 e MMP9 nesses animais. Em modelos animais de IM, o bloqueio da ativação deste fator de transcrição foi efetivo em reduzir o processo inflamatório e o remodelamento ventricular (74). Além disso, em SHR, o bloqueio do NF-κB, reduziu também a expressão renal de ICAM-1 e MCP-1, além da atividade de MMPs e pressão arterial (75, 76). Dessa forma, o NF-κB parece desenvolver papel importante na patogênese de DCVs e vem sendo amplamente estudado nessas doenças (72).

Em conjunto, essas evidências descrevem a participação da inflamação no desenvolvimento e progressão de DCVs, como o remodelamento cardíaco. Além

disso, sabe-se que a ativação do sistema imune é um fator importante para a ativação deste processo inflamatório perante uma injúria (26, 27).

1.3 Receptores do tipo Toll

Receptores do tipo Toll (TLRs) são uma família de receptores da imunidade inata que desenvolvem papel importante na ativação de processos inflamatórios, sendo capazes de reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e também padrões moleculares associados a lesões (DAMPs) (77-79).

Atualmente foram identificados até 11 subtipos de TLRs em humanos e 13 em ratos e camundongos. Eles estão distribuídos por todo o organismo, em diversas células e tecidos, como macrófagos, monócitos, neutrófilos, células B, células dentríticas, células do miocárdio e endoteliais do músculo liso vascular, dentre outras (79, 80). Cada TLR possui um domínio extracelular que confere especificidade aos PAMPs, que geralmente são expostos na superfície de microorganismos como vírus, bactérias, fungos e parasitas. São exemplos de PAMPs o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) presente em bactérias gram-negativas, os quais são reconhecidos por TLR4, peptideoglicanos presentes em bactérias gram-positivas, que ativam TLR2, sequências de CpG de DNA e RNA de dupla fita encontrados em vírus, identificados por TLR9, dentre outros (77, 81, 82).

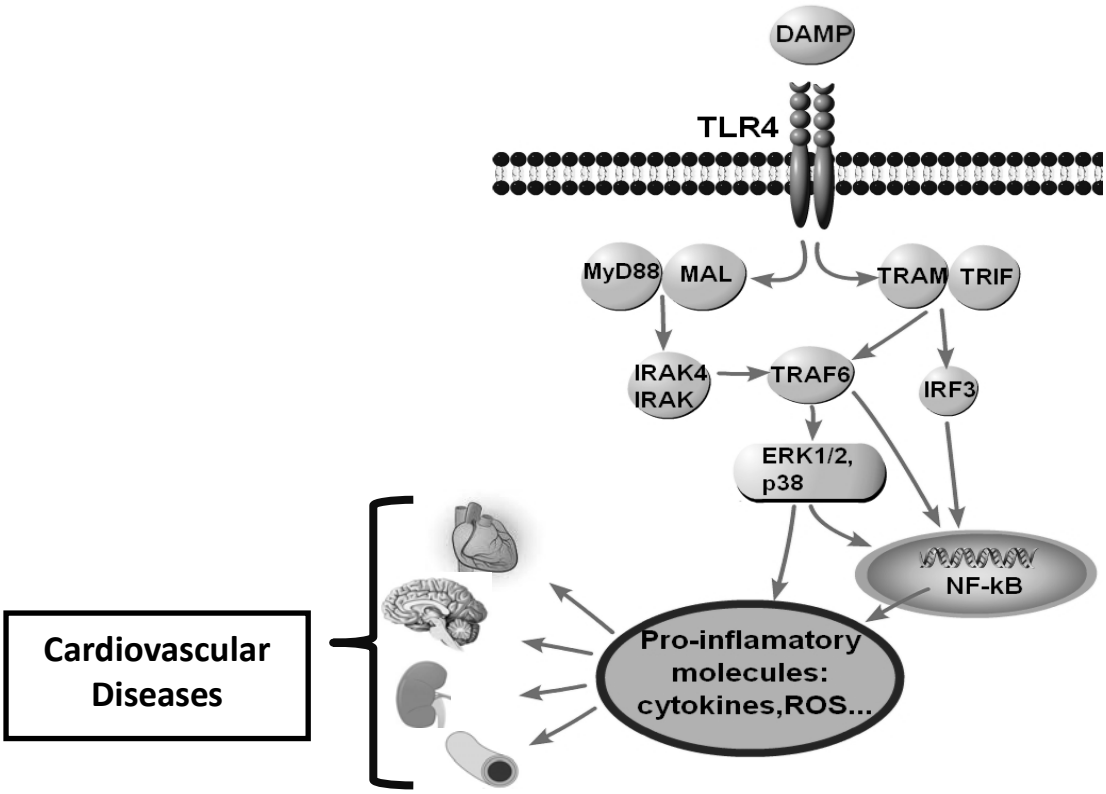
Os TLRs possuem um domínio TIR (receptor toll-interleucina-1) encontrado na região citosólica da célula e que é responsável pela ativação das vias de sinalização destes receptores (77). Conforme demonstrado na figura 1, após a ativação do TLR4, esse receptor sofre mudanças conformacionais, permitindo o recrutamento de até cinco moléculas adaptadoras, que são: MyD88 (myeloid differentiation factor 88), TIRAP (TIR-associated protein) também conhecida como MAL (MyD88-adaptor-like), TRAM (Toll-receptor-associated molecule), SARM (sterile-α and heat/armadillo motif protein) e TRIF (Toll-receptor-associated activator of interferon). O tipo de sinalização depende do uso seletivo de diferentes combinações de moléculas adaptadoras, sendo a principal molécula adaptadora recrutada com a ativação do TLR4 a MyD88 (uma molécula compartilhada por quase todos os TLRs) (83).

Após recrutada, a MyD88 associa-se com a IRAK4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4), o que favorece a fosforilação da IRAK1 (interleukin-1 receptor-

associated kinase 1), permitindo a ligação da TRAF6 (TNF receptor associated fator 6) ao complexo. A ligação da TRAF6, por sua vez, ativa TAK1 (TGF-β–activated kinase 1) que faz complexo com TAB1 (TAK1 binding protein) e TAB2 (TAK2 binding protein). Após a formação desse complexo, TAK1 ativa o complexo IKK (IκB kinase) que induz a ativação de NF-κB. Simultaneamente, TAK1 ativa membros das MAPKs, induzindo assim, a produção de moléculas inflamatórias (83).

Os genes expressos em resposta a ativação do TLR4, codificam proteínas importantes como citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-1 e IL-6), moléculas de adesão endotelial, MCP-1, COX (ciclooxigenase), óxido nítrico, espécies reativas de oxigênio, sendo este um possível mecanismo responsável pelo aumento de moléculas inflamatórias no processo hipertensivo (80).

Figura 1 – Esquema ilustrando as principais vias de sinalização ativadas pelo TLR4 na célula.



DAMP: Damage associated molecular pathern (Padrões moleculares associados à danos); TLR: Toll like receptors (receptores do tipo Toll); MyD88: Myeloid differentiation primary response gene 88; MAL: MyD88-adaptador like; TRAM: Toll receptor associated molecule; TRIF: Toll-receptor activeted interferon; IRAK: Interleukin-1 receptor associated kinase; TRAF: TNF receptor associated fator; IRF: Interferon regulatory factor; p38 e ERK1/2: MAPKs (Proteína quinase ativada por mitógeno); NF-κB: Fator nuclear kappa-B; ROS: espécies reativas de oxigênio.
Fonte: Adaptado de Bomfim et al. (72).

Os TLRs podem também ser ativados por moléculas endógenas (DAMPs), como no caso do TLR4, que pode ser ativado por HSP60, HSP70, angiotensina II, proteína amilóide A, LDL oxidado, PCR, fragmentos de hialurona, fibrinogênio, dentre outras, moléculas estas que já foram descritas como aumentadas na HA. Estes fatores podem estimular uma resposta imune inata através da ativação de TLRs mesmo na ausência de patógenos (78, 81, 84-86).

Estudos relacionando TLRs e DCVs evidenciam principalmente a participação dos TLR2 e TLR4, portanto o reconhecimento e ativação destes receptores por moléculas endógenas pode ser um elo importante entre DCVs, inflamação e ativação do sistema imune. Já foi descrito o envolvimento do TLR4 em DCVs como aterosclerose, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca, sendo que o bloqueio destes receptores parece desenvolver papel protetor no desenvolvimento destas doenças (81).

Conforme descrito anteriormente, o processo inflamatório é determinante para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose, sendo assim, trabalhos recentes evidenciaram a importante participação dos TLR4 no desenvolvimento desta doença (36). Animais knockout para TLR4 e estudos epidemiológicos em humanos com polimorfismo no gene que codifica o TLR4, relatam a importância deste receptor na formação da neoíntima (85, 87). Além disso, sabe-se que estes receptores podem ser ativados por ligantes endógenos como o LDL-oxidado, principal molécula associada com o desenvolvimento destas lesões (88).

No infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca, foi observado que há aumento na expressão dos TLR4, porém os mecanismos envolvidos nestas alterações ainda permanecem desconhecidos (89). Em camundongos knockout para TLR4 e com IM induzido por coarctação de aorta, autores observaram que o TLR4 participa do remodelamento patológico do ventrículo esquerdo por induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, a degradação de matriz extracelular e a hipertrofia cardíaca (90). Além disso, foi demonstrado também que na isquemia e reperfusão em camundongos knockout para TLR4, este receptor participa da resposta inflamatória neste modelo, contribuindo para a disfunção cardíaca através da produção de citocinas pró-inflamatórias (91).

Já foi descrito que a HA pode modular a expressão do TLR4, pois em animais SHR com 8 semanas de vida há aumento na expressão cardíaca deste receptor em relação aos animais controle Wistar Kyoto (92). Na clínica foi demonstrado que o polimorfismo do TLR4 Asp299Gly está associado com o desenvolvimento de menor massa ventricular esquerda em mulheres hipertensas (93). Além disso, autores descreveram que camundongos knockout para TLR4 ou machos Sprague-Dowley que receberam o bloqueio de MyD88, após coarctação de aorta, desenvolvem hipertrofia cardíaca menos severa do que animais controle, além de redução da apoptose dos cardiomiócitos (78, 94).

Em resumo, diversos dados evidenciam que os TLR4 são importantes receptores relacionados com doenças cardiovasculares, no entanto ainda há muito a ser esclarecido quanto à sua participação na fisiopatogenia do remodelamento cardíaco, uma sequela comum da hipertensão arterial.

2 CONCLUSÃO

Nossos resultados nos permitem concluir que os TLR4 participam diretamente do processo de remodelamento ventricular esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos – SHR adultos.

REFERÊNCIAS*

1. SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. VI Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 17, p. 1-51, 2010.

2. KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia:** bases patológicas das doenças. 7. edição. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2005. 1592 p.

3. KEARNEY, P. M.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P. K.; HE, J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**, v. 365, p. 217-223, 2005.

4. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **DATASUS**. Disponivel em: <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php?area=0203>. Acesso em: 24 jan. 2009.

5. GOODMAN, L.; AUSIELLO, D. **Tratado de medicina interna**. 22. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2005. 1280 p.

6. FAZAN, R.; SILVA, V. J. D.; SALGADO, H. C. Modelos de hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 19-29, 2001.

7. MILL, J. G.; VASSALLO, D. V. Hipertrofia cardíaca. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 63-75, 2001.

8. WRIGHT, J. W.; MIZUTANI, S.; HARDING, J. W. Pathways involved in the transition from hypertension to hypertrophy to heart failure. **Heart Failure Reviews**, n. 13, p. 367-375, 2007.

9. NOGUEIRA, J. B. Left ventricular hypertrophy in systemic hypertension benefits of its reversal. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 73, p. 108-112, 1999.

10. LORELL, B. H.; CARABELLO, B. A. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection and prognosis. **Circulation**, v. 102, p. 470-479, 2000.

11. MATSUBARA, B. B.; FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Aspectos anatomopatológicos da disfunção ventricular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 3, p. 361-370, 2002.

12. FRANCHINI, K. G. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 125-142, 2001.

13. SAFI Jr., J. Hipertrofia miocárdica e biologia molecular. **HiperAtivo**, v. 3, p. 154-160, 1998.

14. SILVA, G. J. J.; KRIEGER, J. E. Hipertrofia ventricular esquerda na hipertensão arterial. **Hipertensão**, v. 3, p. 156-160, 2000.

15. SHIH-HUNG, T.; YEN-YUE, L.; SHI-JYE, C.; CHING-WANG, H.; SHU-MENG, C. Interpretation and use of natriuretic peptides in non-congestive heart failure settings. **Yonsei Medical Journal**, v. 51, p. 151-163, 2010.

***** De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

16. CACCIAPUOTI, F. Natriuretic peptide system and cardiovascular disease. **Heart Views**, v. 11, p. 10-15, 2010.

17. WEBER, K. T. Fibrosis and hypertensive heart disease. **Current Opinion in Cardiology**, v. 15, p. 264-272, 2000.

18. ROSSI, M. A. Pathologic fibrosis and connective tissue matrix in left ventricular hypertrophy due to chronic arterial hypertension in humans. **Journal of Hypertension**, v. 16, p. 1031-1041, 1998.

19. ZORNOFF, L. A. M.; CICOGNA, A. C.; PAIVA, S. A. R.; SPADARO, J. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 3, p. 371-378, 2002.

20. CHOW, A. K.; CENA, J.; SCHULZ, R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, p. 189-205, 2007.

21. SCHULZ, R. Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 47, p. 211-242, 2007.

22. BROOKS, W. W.; BING, O. H. L.; ROBINSON, K. G.; SLAWSKY, M. T.; CHALETSKY, D. M.; CONRAD, C.H. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on myocardial fibrosis and function in hypertrophied and failing myocardium from the spontaneously hypertensive rat. **Circulation**, v. 96, p. 4002-4010, 1997.

23. BRILLA, C. G.; FUNCK, R. C.; RUPP, H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. **Circulation**, v. 102, p. 1388-1393, 2000.

24. PAULETTO, P.; RATTAZZI, M. Inflammation and hypertension: the search for a link. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, p. 850-853, 2006.

25. SPRAGUE, A. H.; KHALIL, R. A. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. **Biochemical Pharmacology**, v. 78, p. 539-552, 2009.

26. JIANG, B.; LIAO, R. The paradoxical role of inflammation in cardiac repair and regeneration. **Journal of Cardiovascular Translational Research**, v. 3, p. 410-416, 2010.

27. EMING, S. A.; HAMMERSCHMIDT, M.; KRIEG, T.; ROERS, A. Interrelation of immunity and tissue repair of regeneration. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 20, p. 517-527, 2009.

28. GONZALEZ, A.; RAVASSA, S.; BEAUMONT, J.; LOPEZ, B.; DIEZ, J. New targets to treat the structural remodeling of the myocardium. **Journal of American College of Cardiology**, v. 58, p. 1833-1843, 2011.

29. FRANGOGIANNIS, F. G. The immune system and cardiac repair. **Pharmacology Research**, v. 58, p. 88-111, 2008.

30. DOBACZEWSKI, M.; GONZALEZ-QUESADA, C.; FRANGOGIANNIS, N. G. The extracelular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, p. 504-511, 2010.

31. VIRDIS, A.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? **Hypertension**, v. 12, p. 181-187, 2003.

32. TORRE-AMIONE, G.; et al. Tumor necrosis factor-α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. **Circulation**, v. 93, p. 104, 1996.

33. MATSUMORI, A. cytokines in myocarditis and cardiomyophaties. **Current Opinion in Cardiology**, v. 11, p. 302-309, 1996.

34. IKONOMIDIS, I.; ANDREOTTI, F.; ECONOMOU, E.; STEFANADIS, C.; TOUTOUZAS, P.; NIHOYANNOPOULOS, P. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. **Circulation**, v. 100, p. 793-798, 1999.

35. RIDKER, P. M.; RIFAI, N.; PFEFFER, M.; SACKS, F.; LEPAGE, S.; BRAUNWALD, E. Elevation of tumor necrosis factor-α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. **Circulation**, v. 101, p. 2149-2153, 2000.

36. PASCERI, V.; et al. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. **Circulation**, v. 103, p. 2531-2534, 2001.

37. OIKONOMOU, E.; TOUSOULIS, D.; SIASOS, G.; ZAROMITIDOU, M.; PAPAVASSILIOU, A. G.; STEFANADIS, C. The role of inflammation in heart failure: new therapeutic approaches. **The Hellenic Journal of Cardiology**, v. 52, p. 30-40, 2011.

38. ELSTER, S. K.; BRAUNWALD, E.; WOOD, H. F. A study of C-reactive protein in the serum of patients with congestive heart failure. **American Heart Journal**, v. 51, p. 533-541, 1956.

39. LEVINE, B.; KALMAN, J.; MAYER, L.; FILLIT, H. M.; PACKER, M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 236-241, 1990.

40. CHUNG, E. S.; PACKER, M.; LO, K. H.; FASANMADE, A. A.; WILLERSON, J. T. Randomized double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. **Circulation**, v, 107, p. 3133-3140, 2003.

41. MANN, D. L.; et al. Target anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). **Circulation**, v. 109, p. 1594-1602, 2004.

42. MAHMUD, A.; FEELY, J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. **Hypertension**, v. 46, p. 1118-1122, 2005.

43. SIWIK, D. A.; CHANG, D. L.; COLUCCI, W. S. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor-α decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro. **Circulation Research**, v. 86, p. 1259-1265, 2000.

44. DESWAL, A.; PETERSEN, N. J.; FELDMAN, A. M.; WHITE, B. G.; MANN, D. L. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). **Circulation**, v. 3, p. 2055-2059, 2001.

45. MAUVIEL, A. Cytokine regulation of metalloproteinase gene expression. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 53, p. 288-295, 1993.

46. NAGASE, H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 378, p. 151-160, 1997.

47. TORRE-AMIONE, G.; et al. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. **Circulation**, v. 92, p. 1487-1493, 1995.

48. MUEGGE, K.; et al. Interleukin-1 costimulatory activity on the interleukin-2 promoter via AP-1. **Science**, v. 246, p. 249-251, 1989.

49. OLD, L. J. Tumor necrosis factor (TNF). **Science**, v. 230, p. 630-632, 1985.

50. KAPADIA, S. R.; ORAL, H.; LEE, J.; NAKANO, M.; TAFFET, G. E.; MANN, D. L. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. **Circulation Research**, v. 81, p. 187-195, 1997.

51. HAMID, T.; et al. Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappa B and inflammatory activation. **Circulation**, v. 119, p. 1386-1397, 2009.

52. DIWAN, A.; et al. Targeted overexpression of noncleavable and secreted forms of tumor necrosis factor provokes disparate cardiac phenotypes. **Circulation**, v. 109, p. 262-268, 2004.

53. KRISHNAMURTHY, P.; RAJASINGH, J.; LAMBERTS, E.; QIN, G.; LOSORDE, D. W.; KISHORE, R. IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR. **Circulation Research**, v. 104, p. 9-18, 2009.

54. DUNLAY, S. M.; WESTON, S. A.; REDFIELD, M. M.; KILLIAN, J. M.; ROGER, V. L. Tumor necrosis factor-alpha and mortality in heart failure: a community study. **Circulation**, v. 118, p. 625-631, 2008.

55. FRANCIS, G. S. TNF-alpha and heart failure. The difference between proof of principle and hypothesis testing. **Circulation**, v. 99, p. 3213-3214, 1999.

56. KUBOTA, T.; MCTIERNAN, C. F.; FRYE, C. S.; DEMETRIS, A. J.; FELDMAN, A. M. Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis fator-alpha causes lethal myocarditis in transgenic mice. **Journal of Cardiac Failure**, v. 3, p. 117-124, 1997.

57. BOZKURT, B.; et al. Pathophysiologically relevant concentration of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. **Circulation**, v. 97, p. 1382-1392, 1998.

58. YOKOYAMA, T.; VACA, L.; ROSSEN, R. D.; DURANTE, W.; HAZARIKA, P.; MANN, D. L. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in the adult mammalian heart. **Journal of Clinical Investigation**, v. 92, p. 2303-2312, 1993.

59. SIVASUBRAMANIAN, N.; et al. Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. **Circulation**, v. 104, p. 826-831, 2001.

60. EMONARD, H.; GRIMAUD, J. A. Matrix metalloproteinases. **Cellular and Molecular Biology**, v. 36, p. 131-153, 1990.

61. COKER, M. L.;.; et al. Matrix metalloproteinases expression and activity in islated myocytes after neurohormonal stimulation. **Heart and Circulatory Physiology**, v. 281, p. 543-551, 2001.

62. ROSANO, L.; et al. Endothelin-1 induces tumor proteinase activation and invasiveness of ovarian carcinoma cells. **Cancer Research**, v. 61, p. 8340-8346, 2001.

63. TSURUDA, T.; et al. Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. **Circulation Research**, v. 91, p. 1127-1134, 2002.

64. SCHULZ, R. Activation of MMP-2 as key event in oxidative stress injury to the heart. **Frontiers en Bioscience**, v. 14, p. 699-716, 2009.

65. WOESSNER Jr., J. F.; NAGASE, H. **Introduction to the matrix metalloproteinases (MMPs):** matrix metalloproteinases and TIMPs. New York, NY: Oxford University Press, 2000. p. 1-10.

66. GAJARSA, J. J.; KLONER, R. A. Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities. **Heart Failure Review**, v. 16, p. 13-21, 2011.

67. ROLDAN, V.; et al. Matrix metaloproteinases and tissue remodeling in hypertrophic cardiomyopathy. **American Heart Journal**, v. 156, p. 85-91, 2008.

68. BERGMAN, M. R.; TEERLINK, J. R.; MAHIMKAR, R.; LI, L.; ZHU, B. Q.; NGUYEN, A.; DAHI, S.; KARLINER, J. S.; LOVETT, D. H. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction.Heart **Circulation Physiology**, v. 292, p. 1847-1860, 2007.

69. WANG, G. Y.; BERGMAN, M. R.; NGUYEN, A. P.; TURCATO, S.; SWIGART, P. M.; RODRIGO, M. C.; SIMPSON, P. C.; KARLINER, J. S.; LOVETT, D. H.; BAKER, A. J. Cardiac transgenic matrix metalloproteinase-2 expression directly induces impaired contractility. **Cardiovascular Research**, v. 69, p. 688-696, 2006.

70. MATSUSAKA, H.; et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase 2 ameliorates myocardial remodeling in mice with chronic pressure overload. **Hypertension**, v. 47, p. 711-717, 2006.

71. RUTSCHOW, S.; LI, J.; SCHULTHEISS, H. P.; PAUSCHINGER, M. Myocardial proteases and matrix remodeling in inflammatory heart disease. **Cardiovascular Research**, v. 69, p. 646-656, 2006.

72. BOMFIM, G. F.; SZASZ, T.; CARVALHO, M. H. C.; WEBB, R. C. The toll way to hypertension: role of the innate imune response. **Endocrinology & Metabolic Syndrome**, v. 8, p. 1-8, 2011.

73. BARNES, P. J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappa B: a pivotal transcription factor I chronic inflammatory diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 336, p. 1066-1071, 1997.

74. FRANTZ, S.; et al. Absence of NF-kappa B subunit p50 improves heart failure after myocardial infarction. **FASEB**, v. 20, p. 1918-1920, 2006.

75. WU, K. I.; SCHMID-SCHONBEIN, G. W. Nuclear factor kappa B and matrix metalloproteinase induced receptor cleavage in the spontaneously hypertensive rat. **Hypertension**, v. 57, p. 261-268, 2011.

76. RODRIGUEZ-ITURBE, B.; FERREBUZ, A.; VANEGAS, V.; QUIROZ, Y.; MEZZANO, S.; VAZIRI, N. D. Early and sustained inhibition of nuclear factor-κB prevents hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 315, p. 51-57, 2005.

77. JUNIOR, L. F. S. **O papel do receptor toll-like 4 na aterogênese em modelo experimental de aterosclerose**. 2008. 101 f. Tese (Doutorado em Ciência) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

78. HA, T.; LI, Y.; HUA, F.; MA, J.; GAO, X.; KELLEY, J.; ZHAO, A.; HADDAD, G. E.; WILLIAMS, D. L.; BROWDER, I. W.; KAO, R. L.; LI, C. Reduced cardiac hypertrophy in toll-like receptor 4-deficient mice following pressure overload. **Cardiovascular Research**, v. 68, p. 224-234, 2005.

79. DASU, M. R.; RIOSVELASCO, A. C.; JIALAL, I. Candesartan inhibits toll-like receptor expression and activity both in vitro and in vivo. **Atherosclerosis**, v. 202, p. 76-83, 2008.

80. VERSTAK, B.; HERTZOG, P.; MANSELL, A. Toll-like receptor signaling and the clinical benefits that lie within. **Journal of Inflammation Research**, v. 56, p. 1-10, 2007.

81. FRANTZ, S.; ERTL, G.; BAUERSACHS, J. Mechanisms of disease: toll-like receptors in cardiovascular disease. **Nature Clinical Practice**, v. 4, p. 444-454, 2007.

82. YANG, X.; CORIOLAN, D.; MURTHY, V.; SCHULTZ, K.; GOLENBOCK, D. T.; BEASLEY, D. Proinflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells: role of efficient toll-like receptor 4 signaling. **Heart Circulation Physiology**, v. 289, p. 1069-1076, 2005.

83. BEUTLER, B. Inferences, questions and possibilities in toll-like receptor signaling. **Nature**, v. 430, p. 257-263, 2004.

84. SANDRI, S.; RODRIGUEZ, D.; GOMES, E.; MONTEIRO, H. P.; RUSSO, M.; CAMPA, A. Is serum amyloid A endogenous TLR4 agonist?. **Journal of Leukocyte. Biology**, v. 83, p. 1174-1180, 2008.

85. PASTERKAMP, G.; KEULEN, J. K. V.; KLEIJN, D. P. V. Role of toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 34, p. 328-334, 2004.

86. LIU, N.; LIU, J. T.; JI, Y. Y.; LU, P. P. C-reactive protein triggers inflammatory responses partly via TLR4/IRF3/NF-Kb signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells. **Life Sciences**, v. 87, p. 367-374, 2010.

87. MICHELSEN, K. S.; DOHERTY, T. M.; SHAH, P. K.; ARDITI, M. Role of toll-like receptors in atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 95, p. 96-97, 2004.

88. CORRÊA-CAMACHO, C. R.; DIAS-MELICIA, L. A.; SOARES, A. M. V. C. Aterosclerose, uma resposta inflamatória. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 14, p. 41-48, 2007.

89. FRANTZ, S.; KOBZIK, L.; KIM, Y-D.; FUKAZAWA, R.; MEDZHIYOV, R.; LEE, R. T.; KELLY, R. A. Toll 4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium. **Journal of Clinical Investigation.**, v. 104, p. 271-280, 1999.

90. TIMMERS, L.; JOOST, P. G.; SLUIJTER, J.; KEULEN, K. V.; HOEFER, I. E.; NEDERHOFF, M. G. J.; GOUMANS, M. J.; DOEVENDANS, P. A.; ECHTELD, C. J. A. V.; JOLES, J. A.; QUAX, P. H.; PIEK, J. J.; PASTERKAMP, G.; KLEIJN, D. P. V. Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction **Circulation Research**, v. 102, p. 257-264, 2008.

91. CHA, J.; WANG, Z.; AO, L.; ZOU, N.; DINARELLO, C. A.; BANERJEE, A.; FULLERTON, D. A.; MENG, X. Cytokines link toll-like receptor 4 signaling to cardiac dysfunction after global myocardial ischemia. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 85, p. 1678-1685, 2008.

92. EISSLER, R.; SCHMADERER, C.; RUSAI, K.; KUHNE, L.; SOLLINGER, D.; LAHMER, T.; WITZKE, O.; LUTZ, J.; HEEMANN, U.; BAUMANN, M. Hypertension augments cardiac toll-like receptor 4 expression and activity. **Hypertension Research**, p. 1-8, 2010.

93. SALES, M. L.; SCHREIBER, R.; FERREIRA-SAE, M. C.; FERNANDES, M. N.; PIVETA, C.; CIPOLLI, J. A.; CALIXTO, A.; MATOS-SOUZA, J. R.; GELONEZE, B.; FRANCHINI, K. G.; NADRUZ, W. Jr. The functional Toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphism is associated with lower left ventricular mass in hypertensive women. **Clinica Chimica Acta.**, v. 411, p. 744-748, 2010.

94. HA, T.; HUA, F.; LI, Y.; MA, J.; GAO, X.; KELLEY, J.; ZHAO, A.; HADDAD, G. E.; WILLIAMS, D. L.; BROWDER, W.; KAO, R. L.; LI, C. Blockade of MyD88 attenuates cardiac hypertrophy and decreases cardiac myocyte apoptosis in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in vivo. **American Journal of Physiology Heart Physiology.**, v. 290, p. 985-994, 2006.