BRUNO VINICIUS DUARTE MARQUES

**Obesidade reduz a participação do receptor AT₂ na ação
anticontrátil do tecido adiposo perivascular da aorta torácica de
camundongos**

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

São Paulo

2019

RESUMO

Marques, B. V. D. Obesidade reduz a participação do receptor AT₂ na ação anticontrátil do tecido adiposo perivascular da aorta torácica de camundongos. 2019. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2019.

A obesidade predispõe a inúmeras doenças que vem causando milhares de mortes por ano, sendo um problema de saúde pública na maior parte do mundo. Disfunção do tecido adiposo está associada ao desenvolvimento dessas doenças. O tecido adiposo perivascular (PVAT) é um depósito que está localizado circundando os vasos sanguíneos e libera diversas moléculas vasodilatadoras e vasoconstritoras, que atuam tanto no músculo liso vascular quanto no endotélio, participando do controle do tônus vascular. Assim, disfunção do PVAT pode levar ao desenvolvimento de doenças vasculares. Vários componentes do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) estão expressos no PVAT, sendo que estes podem participar do controle do tônus vascular. O objetivo do presente projeto é avaliar o papel dos eixos vasodilatadores do SRAA (angiotensina II/receptor AT₂ e enzima conversora de angiotensina 2/angiotensina 1-7/receptor Mas) na ação anticontrátil do PVAT da aorta torácica de camundongos obesos. Camundongos C57Bl/6 de 4 semanas de idade foram submetidos à dieta controle (CTL) ou hiperlipídica (OB) por 16 semanas. No final deste período, foi realizada a caracterização da obesidade e avaliação da reatividade vascular de anéis de aorta torácica sem (PVAT-) e com (PVAT+) PVAT para noradrenalina, incubadas ou não com o antagonista do receptor AT₂ (PD123,319), antagonista do receptor Mas (A779) e inibidor da óxido nítrico sintase (L-NAME). Nossos resultados mostram que o efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica está prejudicado em camundongos OB, devido a menor participação do receptor AT₂, porém essa disfunção independe de alterações da sinalização do receptor Mas e do óxido nítrico. A expressão proteica dos receptores AT₂ foi reduzida na aorta e aumentada no PVAT de camundongos OB. Para confirmar a participação do receptor AT₂ no efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica, curvas para noradrenalina foram realizadas em anéis PVAT- e PVAT+ de camundongos nocautes para esse receptor (KO), que

foram alimentados com dieta controle (CTL KO) e hiperlipídica (OB KO). Mostramos que o PVAT dos animais CTL KO não possui efeito anticontrátil e que a presença do PVAT aumenta a contração à noradrenalina em camundongos KO. Portanto, nossos resultados mostram que a presença do receptor AT_2 é essencial para o efeito anticontrátil do PVAT da aorta.

Palavras-chave: Tecido adiposo perivascular. Sistema renina-angiotensina. Obesidade.

ABSTRACT

Marques, B. V. D. Obesity reduces AT₂ receptor participation in anti-contractile effect of mice aortic perivascular adipose tissue. 2019. Dissertation (Master in Pharmacology) - Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2019

Obesity predisposes to numerous diseases that have been causing thousands of deaths per year, being a public health problem in most of the world. Adipose tissue dysfunction is associated with the development of these diseases. Perivascular adipose tissue (PVAT) is a deposit that is located around the blood vessels and releases several vasodilator and vasoconstrictor molecules that act on both vascular smooth muscle and endothelium, participating in the control of vascular tone. Thus, PVAT dysfunction can lead to the development of vascular diseases. Several components of the renin angiotensin aldosterone system (RAAS) are expressed in PVAT, which may participate in the control of vascular tone. The aim of the present study is to evaluate the role of the RAAS vasodilator axes (angiotensin II/ AT₂ receptor and angiotensin converting enzyme 2/ angiotensin 1-7/ Mas receptor) in the anti-contractile action of PVAT in the thoracic aorta of obese mice. Four-week-old C57Bl/6 mice were submitted to a control (CTL) or high-fat (OB) diet for 16 weeks. At the end of this period, the characterization of obesity and assessment of vascular reactivity of thoracic aorta rings without (PVAT-) and with (PVAT+) PVAT for norepinephrine were performed in the absence and presence of AT₂ receptor antagonist (PD123,319), Mas receptor antagonist (A779) and nitric oxide synthase inhibitor (L-NAME). Our results show that the anti-contractile effect of thoracic aortic PVAT is impaired in OB mice due to lower participation of the AT₂ receptor, but this dysfunction is independent of changes in Mas receptor signaling and nitric oxide. AT₂ receptor protein expression was reduced in the aorta and increased in the PVAT of OB mice. To confirm the participation of the AT₂ receptor in the anti-contractile effect of thoracic aortic PVAT, curves for norepinephrine were performed in PVAT- and PVAT+ rings from knockout mice for this receptor (KO), which were fed a control (CTL KO) and high-fat diet (OB KO). We show that the PVAT of CTL KO animals has no anti-contractile effect and that the presence of PVAT increases the norepinephrine

contraction in OB KO mice. Therefore, our results show that the presence of the AT₂ receptor is essential for the anti-contractile effect of aortic PVAT.

Keywords: Perivascular adipose tissue. Renin-angiotensin system. Obesity.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Obesidade

A obesidade é um problema de saúde pública que aumenta a predisposição a diversas doenças. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, em 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos estavam acima do peso (índice de massa corpórea, IMC, ≥ 25 e < 30) e, dentre esses, aproximadamente 650 milhões estavam obesos (IMC ≥ 30), correspondendo a 39% e 13% da população acima de 18 anos, respectivamente (World Health Organization. 2017). No Brasil, 53,8% da população está acima do peso e 18,9% de brasileiros são obesos, tendo este número crescido 60% entre 2006 e 2016 (Vigitel Brasil, 2016).

Em todos os países do mundo a prevalência de obesidade vem aumentando anualmente, estima-se que a obesidade é responsável por 3,4 milhões de mortes anualmente (Ng et al., 2014). A obesidade também leva a uma diminuição da expectativa de vida da pessoa com esta condição, os números variam de acordo com o sexo e etnia, mas a quantidade de anos de vida perdidos vai de cerca de 5 até 10 anos em decorrência da obesidade (Fontaine et al., 2003; Kitahara et al., 2014; Lung et al., 2018)

Além do custo de vida, o custo econômico do sobrepeso e obesidade vem aumentando e se tornando grandes desafios das gestões públicas. No Brasil, estima-se que anualmente são gastos 2,1 bilhões de dólares com doenças relacionadas ao sobrepeso e a obesidade, sendo que 10% desse valor é atribuível somente a essas condições (Bahia et al., 2012).

Além disso, existem outros custos relacionados a essas condições, como revisado por Hammond e Levine (2010), como diminuição de produtividade, absentismo, debilidade, seguro de saúde, que somados aos gastos de saúde estima-se ter alcançado US\$ 215 bilhões.

A obesidade é usualmente consequência de um desequilíbrio entre a ingesta e gasto calórico, resultando em aumento do estoque de triglicerídeos e levando à hipertrofia do adipócito e hiperplasia do tecido adiposo. Apesar da etiologia da obesidade ser multifatorial, seu desenvolvimento parece estar mais associado a fatores comportamentais, tais como uma excessiva ingestão de alimentos com altos níveis de gorduras e carboidratos e estilo de vida sedentário, do que ao genótipo

individual (Bloor e Symonds, 2014).

Do ponto de vista da evolução, os animais evoluíram para acumular gordura quando havia comida em excesso disponível e isso significava sobrevivência nos tempos de escassez. Entretanto, devido ao fato desse acúmulo de gordura hoje ser maior do que aquele observado no nosso passado como espécie, estamos sofrendo as consequências desse acúmulo de gordura exacerbado.

Como revisado por Leal e Mafra (2013), a obesidade pode levar a diversas alterações e doenças, como resistência à insulina, inflamação, hipertensão e aterogênese, elevando o risco de doenças cardiovasculares e metabólicas. Os mecanismos envolvidos com a predisposição a essas doenças são complexos, mas se acredita que essas consequências são devidas principalmente à expansão do tecido adiposo, com hipertrofia do adipócito, que leva a hipóxia do tecido e infiltração de macrófagos. Todos esses fatores alteram a produção e liberação de adipocinas (substâncias liberadas pelo tecido adiposo), com aumento da leptina, TNF- α , IL-6, angiotensinogênio, entre outros, e diminuição de adiponectina.

A disfunção do tecido adiposo está associada à disfunção metabólica e a doenças cardiovasculares em indivíduos obesos (Gustafson et al., 2010; Fernandez-Sánchez, 2011; Maenhaut et al., 2011; Leal e Mafra, 2013; Fuster et al., 2016). Uma avaliação precisa das consequências da obesidade depende da avaliação da quantidade e distribuição de gordura corporal e função dos adipócitos (Haberka e Gasior, 2015; Meijer et al., 2011). Nesse sentido, o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares está mais associado à adiposidade no depósito visceral do que no depósito subcutâneo (Fitzgibbons e Czech, 2014; Wang et al., 2008). O mecanismo de aumento desse risco pode estar relacionado ao fato de que o depósito visceral é metabolicamente mais ativo do que o subcutâneo, secretando diversas substâncias vasoativas que podem contribuir para um risco cardiometabólico (Fox et al., 2007).

1.2 Tecido adiposo perivascular

Os vasos sanguíneos são compostos por três camadas: túnica íntima, túnica média e túnica adventícia. O tamanho de cada uma delas e a proporção entre elas varia conforme o leito vascular que está sendo avaliado. De forma resumida, a começar da camada mais interna, a túnica íntima é formada principalmente por uma monocamada de células endoteliais, esta camada está em direto contato com a corrente sanguínea. A túnica média é onde estão localizadas as células da musculatura lisa, que são predominantes nesta camada do vaso, e são responsáveis pela capacidade de contração e relaxamento dos vasos, além de fibras colágenas e elásticas que auxiliam na estrutura do vaso e organização das células musculares.

A adventícia, camada mais externa da parede dos vasos sanguíneos, pode ser dividida em duas subcamadas: a adventícia compacta, cujo principal tipo celular é o fibroblasto; e a gordura adventícia, que contém principalmente adipócitos (Miao e Li, 2012). A gordura adventícia é conhecida também como tecido adiposo perivascular ou PVAT. O PVAT está localizado ao redor dos vasos sanguíneos (com diâmetro acima de 100 μm), com exceção dos vasos sanguíneos cerebrais (Gao, 2007) e, embora as características sejam diferentes, o termo PVAT refere-se ao tecido adiposo que circunda os vasos sanguíneos independentemente da sua localização.

O PVAT é um tecido heterogêneo, com variação da sua morfologia a depender da sua localização. Fenotipicamente os adipócitos do PVAT da aorta torácica se assemelham a adipócitos marrons. Fitzgibbons e colaboradores (2011) observaram que o PVAT da aorta torácica de camundongos possui características morfológicas muito semelhantes ao tecido adiposo marrom interescapular. Dentre as características apresentadas estão a maior expressão da proteína UCP-1, grande quantidade de mitocôndrias e adipócitos multiloculares (Fitzgibbons et al., 2011). Em contrapartida, os adipócitos do PVAT das artérias mesentéricas, aorta abdominal e artérias coronárias possuem características semelhantes às de adipócitos brancos, não expressam proteína UCP-1 e são uniloculares (Chatterjee et al., 2009; Police et al., 2009; Gálvez-Prieto et al., 2012). Além de adipócitos, o PVAT possui fibroblastos, células tronco mesenquimais, células do sistema imune, terminações de neurônios e vasos sanguíneos (Eringa et al., 2012; Houben et al., 2011; Meijer et al., 2011).

Entretanto, Chang e colaboradores (2012) demonstraram que a deleção do gene do *Peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR γ), um fundamental fator de transcrição que leva a adipogênese, condicionado à expressão da SM22 α , uma proteína expressa majoritariamente em células de músculo liso, leva a perda total do PVAT nesses animais, mas com desenvolvem normal dos demais depósitos, mostrando que os precursores dos adipócitos do PVAT compartilham a mesma origem embrionária do que as células do músculo liso vascular e se diferenciam dos demais adipócitos.

Até 1991, acreditava-se que o PVAT possuía somente uma função estrutural, porém neste ano Soltis e Cassis publicaram um estudo mostrando pela primeira vez que o PVAT promovia diminuição na resposta contrátil à noradrenalina em aorta torácica de ratos e, assim, apontaram um papel do PVAT na modulação da contração vascular (Soltis e Cassis, 1991). Uma década depois, Löhn e colaboradores (2001) demonstraram que o PVAT liberava um fator relaxante não identificado, mas que levava à ativação de canais de potássio por tirosina quinases e hiperpolarização das células do músculo liso vascular. Atualmente, o PVAT é considerado um regulador negativo da vasoconstrição induzida por agonistas em condições fisiológicas. Uma vez que o PVAT libera substâncias que possuem ação autócrina e parácrina, faz com que esse depósito seja um compartimento relevante em doenças cardiometabólicas (Eringa et al., 2007; Chatterjee et al., 2009; Siegel-Axel e Häring, 2016).

O PVAT libera diversas substâncias que podem mediar sua ação anticontrátil, que podem variar com o leito vascular, a espécie e o agonista vasoconstritor avaliado. Exemplos dessas substâncias são óxido nítrico (NO) (Gao et al., 2007; Gil-Ortega et al., 2010), peróxido de hidrogênio (Gao et al., 2007), sulfeto de hidrogênio (Fang et al., 2009; Schleifenbaum et al., 2010), adiponectina (Fésüs et al., 2007), angiotensina 1-7 (Lee et al., 2009), prostaglandinas (Ozen et al., 2013) e palmitato (Lee et al., 2011). Contudo, os mecanismos que regulam a liberação dessas substâncias pelo PVAT ainda não são conhecidos. O PVAT pode liberar também fatores contráteis, pois a estimulação elétrica promove contração em artérias mesentéricas de ratos com PVAT intacto, que é prevenida por antagonistas dos receptores α -adrenérgico (Soltis e Cassis, 1991) e receptores AT $_1$ de angiotensina II (Soltis e Cassis, 1991; Lu et al., 2010) e inibidores da enzima conversora de

angiotensina (ECA) (Lu et al., 2010) e NADPH oxidase (Gao et al., 2006). Recentemente foi demonstrado que no PVAT a ativação dos receptores AT₂ e Mas levam à produção de NO e de H₂O₂, que contribuem para o efeito anticontrátil (Nóbrega et al., 2019). Assim, os fatores relaxantes e contráteis derivados do PVAT, associados aos fatores endoteliais, são importantes para regular o tônus vascular.

Em ratos magros, o PVAT mesentérico reduz a contração de artérias mesentéricas de maneira dependente da quantidade de gordura (Verlohren et al., 2004; Gálvez et al., 2006). Contudo, a influência do PVAT na regulação do tônus vascular pode ser alterada em condições em que ocorre disfunção do tecido adiposo. O exemplo mais ilustrativo de disfunção do tecido adiposo é a obesidade. Já foi observado que a obesidade promoveu perda do efeito anticontrátil do PVAT na aorta (Gao et al., 2005; Ma et al., 2010) e em artérias mesentéricas (Marchesi et al., 2009; Fernandez-Alfonso et al., 2013, Hashimoto, 2016), estando relacionado à diminuição de óxido nítrico, que pode ser causado tanto pela diminuição da óxido nítrico sintase (NOS) ou pelo desacoplamento da NOS.

No entanto, vale ressaltar que, devido ao fato das características morfológicas do PVAT variarem de acordo com a localização anatômica, essa perda da ação anticontrátil pode não ser universal e os mecanismos envolvidos podem variar de acordo com o leito vascular.

1.3 Sistema renina-angiotensina-aldosterona

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é um importante regulador da homeostasia hidroeletrólítica, da pressão arterial, de processos metabólicos e crescimento e proliferação celular de vários tecidos.

Simplificadamente, de forma sistêmica, o angiotensinogênio, principal peptídeo precursor do SRAA, produzido principalmente pelo fígado, é clivado pela renina, uma enzima produzida nas células justaglomerulares nos rins, formando a angiotensina I, um decapeptídeo, que através da ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) que é uma dipeptidase, é convertida à angiotensina II, um octapeptídeo, que é ligante de dois receptores, AT₁ e AT₂. O eixo formado por ECA-angiotensina II-receptor AT₁ é responsável por exercer as ações mais conhecidas do SRAA, entre elas estão a vasoconstrição, aumento da sede, produção de aldosterona, reabsorção de sódio, ativação do sistema nervoso simpático, hipertrofia e fibrose. Já a ativação do receptor AT₂ produz, na sua maior parte, efeitos que contrabalanceiam os efeitos provocados pelo receptor AT₁, como vasodilatação, natriurese, prevenção da hipertrofia e fibrose vascular (Steckelings et al., 2013; Singh; Karnik, 2016)

As angiotensinas I e II podem ser clivadas pela ECA2 em angiotensina 1-9 e angiotensina 1-7, respectivamente, sendo que a angiotensina 1-9 pode ser clivada à angiotensina 1-7, que é agonista do receptor Mas. O eixo ECA2-angiotensina 1-7-receptor Mas é contrarregulador das ações da angiotensina II mediadas pelo receptor AT₁. Novos membros do SRAA foram identificados nas últimas décadas. Os peptídeos que têm ações biológicas estão a angiotensina a, angiotensina III, angiotensina IV, angiotensina 3-7, angiotensina 1-12, angiotensina 1-2, angiotensina 1-3, angiotensina 1-4, angiotensina 1-5 e alamandina (Cummins, 2009; Carey, 2013; Lautner et al., 2013; Hrenak, Paulis, Simko, 2016; Moraes et al., 2017; Yu Et Al., 2016).

Todos os componentes do SRAA também são encontrados no coração, vasos sanguíneos e linfáticos, adrenais, rins, pâncreas, sistema nervoso central, sistema reprodutor e tecido adiposo, constituindo o SRAA tecidual, que funciona independentemente do SRAA sistêmico. Contudo, embora a formação de angiotensina II tecidual se dê a partir da angiotensina I, a renina local parece participar dessa conversão apenas nos rins, adrenais e cérebro, sendo que, no

coração e nos vasos sanguíneos, a conversão local parece depender da renina secretada pelos rins (Nguyen Dinh Cat e Touyz, 2011). Aumento dos componentes do SRAA tecidual ocorre independentemente da pressão arterial, na aterosclerose, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença renal e diabetes (Raizada et al., 2007).

Vários componentes do SRAA estão presentes no PVAT de ratos e camundongos, incluindo angiotensinogênio, ECA, ECA2, receptores AT₁ e AT₂, receptor de renina, quimase, angiotensina I, II e 1-7 (Gálvez-Prieto et al., 2008; Inada, 2016). Foi demonstrado que tecido adiposo visceral e PVAT de humanos e camundongos produzem aldosterona de maneira dependente de angiotensina II e que o PVAT de camundongos geneticamente obesos-diabéticos promoveu disfunção endotelial em artérias mesentéricas, que foi corrigida agudamente por antagonista do receptor de mineralocorticoide (Briones et al., 2012). Estudo conduzido em nosso laboratório mostrou que o tratamento crônico com antagonista do receptor AT₁ losartana recuperou a ação anticontrátil do PVAT mesentérico de camundongos obesos (Hashimoto, 2016). Contudo, a participação dos eixos vasodilatadores do SRAA na ação anticontrátil do PVAT de camundongos obesos ainda não é conhecida.

6. CONCLUSÃO

Sumarizando os nossos resultados indicam que:

- 1) Nosso modelo de obesidade é robusto já que mostramos por diversas técnicas seu sucesso;
- 2) A ação anticontrátil do PVAT da aorta torácica está prejudicada em camundongos obesos;
- 3) Os animais obesos apresentam prejuízo da função do PVAT por menor participação do receptor AT_2 ;
- 4) Na ausência do receptor AT_2 não é visto efeito anticontrátil do PVAT da aorta;
- 5) O PVAT de camundongos nocaute obesos aumenta a contração da aorta desses animais;

Podemos então concluir que o receptor AT_2 é essencial para o efeito anticontrátil do PVAT da aorta de camundongos, e que o comprometimento desta função do PVAT em animais obesos é por menor participação desse receptor.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aghamohammadzadeh, R et al. Effects of Obesity on Perivascular Adipose Tissue Vasorelaxant Function: Nitric Oxide, Inflammation and Elevated Systemic Blood Pressure. *Journal Of Vascular Research*, v. 52, n. 5, p.299-305, 2015
- Ali, Q et al. Angiotensin type 2 receptor null mice express reduced levels of renal angiotensin converting enzyme-2/angiotensin (1-7)/Mas receptor and exhibit greater high-fat diet-induced kidney injury. *Journal Of The Renin-angiotensin-aldosterone System*, v. 17, n. 3, p.1-8, ago. 2016
- Bahia, L et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. *Bmc Public Health*, v. 12, n. 1, p.1-7, 18 jun. 2012
- Bedecs, K et al. Angiotensin II type 2 receptors mediate inhibition of mitogen-activated protein kinase cascade and functional activation of SHP-1 tyrosine phosphatase. *Biochemical Journal*, v. 325, n. 2, p.449-454, 15 jul. 1997
- Briones AM et al. Adipocytes produce aldosterone through calcineurin-dependent signaling pathways: implications in diabetes mellitus associated obesity and vascular dysfunction. *Hypertension* 2012; 59: 1069-1078.
- Bruder-Nascimento, T et al. Long Term High Fat Diet Treatment: An Appropriate Approach to Study the Sex-Specificity of the Autonomic and Cardiovascular Responses to Obesity in Mice. *Frontiers In Physiology*, v. 8, p.1-11, jan. 2017.
- Burcelin, R et al. Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet. *American Journal of Physiology-endocrinology And Metabolism*, v. 282, n. 4, p.834-842, abr. 2002
- Bussey, CE et al. β 3-Adrenoceptor stimulation of perivascular adipocytes leads to increased fat cell-derived NO and vascular relaxation in small arteries. *British*

Journal Of Pharmacology, v. 175, n. 18, p.3685-3698, 10 ago. 2018

Carey, RM. Newly discovered components and actions of the renin-angiotensin system. Hypertension 2013; v. 62, n. 5, 818–822.

Chang, L. et al. Loss of Perivascular Adipose Tissue on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- Deletion in Smooth Muscle Cells Impairs Intravascular Thermoregulation and Enhances Atherosclerosis. Circulation, v. 126, n. 9, p.1067-1078, ago. 2012.

Chantemèle, Eric J. Belin de et al. Protein Tyrosine Phosphatase 1B, a Major Regulator of Leptin-Mediated Control of Cardiovascular Function. Circulation, v. 120, n. 9, p.753-763, set. 2009

Chantemele, Eric J. Belin de et al. Impact of Leptin-Mediated Sympatho-Activation on Cardiovascular Function in Obese Mice. Hypertension, v. 58, n. 2, p.271-279, jun. 2011.

Chaar, L. J. et al. High-fat diet-induced hypertension and autonomic imbalance are associated with an upregulation of CART in the dorsomedial hypothalamus of mice. Physiological Reports, v. 4, n. 11, p.1-15, jun. 2016.

Chatterjee TK et al. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes influence of high-fat feeding. Circ Res 2009; 104: 541-549.

Choi, MS et al. High-fat diet decreases energy expenditure and expression of genes controlling lipid metabolism, mitochondrial function and skeletal system development in the adipose tissue, along with increased expression of extracellular matrix remodeling - and inflammation-related genes. British Journal Of Nutrition, v. 113, n. 06, p.867-877, mar. 2015

Craigie, David. Case of Inflammation of the Adipose Tissue, Forming the Sheath of the Carotid Artery, Followed by Erosion and Perforation of the Arterial Tissue

and Fatal Hemorrhage; with Some Remarks on the Peculiarities of Inflammation of the Adipose Tissue. Edinburgh Medical And Surgical Journal, Edinburgh, v. 133, n. 48, p.396-413, out. 1837.

Cui, T. Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell. Cardiovascular Research, v. 49, n. 4, p.863-871, mar. 2001

Cummins, PM. A new addition to the renin-angiotensin peptide family: ProAngiotensin-12 (PA12). Cardiovascular Research 2009; v. 82, n. 1, 7–8.

Davel, AP. et al. Increased Vascular Contractility and Oxidative Stress in β 2-Adrenoceptor Knockout Mice: The Role of NADPH Oxidase. Journal Of Vascular Research, v. 49, n. 4, p.342-352, 2012

De Souza C.T., Araújo E.P., Prada P.O., Saad M.J.A., Velloso L.A. Short-term inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α expression reverses diet-induced diabetes mellitus and hepatic steatosis in mice. Diabetologia 48: 1860-1871, 2005.

Dumas, ME et al. Microbial-Host Co-metabolites Are Prodromal Markers Predicting Phenotypic Heterogeneity in Behavior, Obesity, and Impaired Glucose Tolerance. Cell Reports, v. 20, n. 1, p.136-148, jul. 2017. Elsevier BV

Eringa EC et al. Regulation of vascular function and insulin sensitivity by adipose tissue: focus on perivascular adipose tissue. Microcirculation 2007; 14: 389–402.

Fang, L et al. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. Journal Of Hypertension, v. 27, n. 11, p.2174-2185, nov. 2009.

Fernandez-Alfonso MS et al. Mechanisms of perivascular adipose tissue dysfunction in obesity. Int J Endocrinol 2013; 2013: 1-8.

- Fernandez-Sánchez A et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Science* 2011; 12: 3117-32.
- Fésüs G et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Circ Res* 2007; 75: 719-727.
- Fitzgibbons TP, Czech MP. Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinic associations. *J Am Heart Assoc* 2014; 3: 1-15.
- Fitzgibbons TP et al. Similarity of mouse perivascular and brown adipose tissues and their resistance to diet-induced inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H1425-H1437.
- Fontaine, KR. et al. Years of Life Lost Due to Obesity. *Jama*, v. 289, n. 2, p.1-7, 8 jan. 2003. American Medical Association
- Fox CS et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart study. *Circulation* 2007; 116: 39-48.
- Fuster JJ et al. Obesity-induced changes in adipose tissue microenvironment and their impact on cardiovascular disease. *Circ Res* 2016; 118: 1786-1807.
- Gallou-Kabani, C et al. C57BL/6J and A/J Mice Fed a High-Fat Diet Delineate Components of Metabolic Syndrome. *Obesity*, v. 15, n. 8, p.1996-2005, ago. 2007
- Gálvez B et al. Perivascular adipose tissue and mesenteric vascular function in spontaneously hypertensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1297-1302.
- Gálvez-Prieto B et al. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between White and brown perivascular adipose tissue. *J*

Endocrinol 2008; 197: 55-64.

Gálvez-Prieto B et al. Anticontractile effect of perivascular adipose tissue and leptin are reduced in hypertension. Front Pharmacol 2012; 3: 1–8.

Gao Y-J et al. Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction the role of superoxide anion. Cardiovasc Res 2006; 71: 363-373.

Gao Y-J et al. Prenatal exposure to nicotine causes postnatal obesity and altered perivascular adipose tissue function. Obes Res 2005; 13: 687-692.

Gao Y-J et al. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. Br J Pharmacol 2007; 151: 323–331.

Gao Y-J. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction. Curr Pharm Des 2007; 13: 2185-2192.

Gil-Ortega M et al. Adaptive nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. Endocrinology 2010; 151: 3299–3306.

Gil-Ortega, M et al. Imbalance between Pro and Anti-Oxidant Mechanisms in Perivascular Adipose Tissue Aggravates Long-Term High-Fat Diet-Derived Endothelial Dysfunction. Plos One, v. 9, n. 4, p.1-10, 23 abr. 2014

Greenstein, AS. et al. Local Inflammation and Hypoxia Abolish the Protective Anticontractile Properties of Perivascular Fat in Obese Patients. Circulation v. 119, n. 12, p.1661-1670, 31 mar. 2009

Guilluy, C et al. Ste20-Related Kinase SLK Phosphorylates Ser188 of RhoA to Induce Vasodilation in Response to Angiotensin II Type 2 Receptor Activation. Circulation Research, v. 102, n. 10, p.1265-1274, 23 maio 2008

Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. J Atheroscler Thromb 2010; 17: 332-341.

- Hagihara, GN. et al. Upregulation of ERK1/2-eNOS via AT2 Receptors Decreases the Contractile Response to Angiotensin II in Resistance Mesenteric Arteries from Obese Rats. Plos One, v. 9, n. 8, p.1-10, 29 ago. 2014
- Haberka M, Gasior Z. Carotid extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome: A novel index of perivascular adipose tissue, extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome. Atherosclerosis 2015; 239: 169-177.
- Hammond, R; Levine, R. The economic impact of obesity in the United States. Diabetes, Metabolic Syndrome And Obesity: Targets and Therapy, p.285-295, ago. 2010
- Hashimoto CM. Tratamento crônico com losartana corrige a disfunção do tecido adiposo perivascular em camundongos obesos. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2016.
- Hiyoshi, H. et al. Angiotensin Type 2 Receptor-Mediated Phosphorylation of eNOS in the Aortas of Mice With 2-Kidney, 1-Clip Hypertension. Hypertension, v. 45, n. 5, p.967-973, abr. 2005.
- Higuchi S, et al. Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. Clin Sci (Lond). 2007; 112:417-28
- Houben AJ et al. Perivascular Fat and the Microcirculation: Relevance to Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease. Curr Cardiovasc Risk Rep 6: 80-90, 2011.
- Hrenak, J.; Paulis, L.; Simko, F. Angiotensin A/Alamandine/MrgD axis: Another clue to understanding cardiovascular pathophysiology. International Journal of Molecular Sciences, v. 17, n. 7, 2016.
- Ichiki T, Labosky PA, Shiota C, Okuyama S, Imagawa Y, Fogo A, Niimura F,

- Ichikawa I, Hogan BL, Inagami T. Effects on blood pressure and exploratory behaviour of mice lacking angiotensin II type-2 receptor. *Nature*. 1995;26(377):748-50
- Inada AC. Componentes do sistema renina-angiotensina no tecido adiposo perivascular da aorta torácica e do leito mesentérico: alterações promovidas pela obesidade induzida por dieta hiperlipídica. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2016.
- Jo, J et al. Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. *Plos Computational Biology*, v. 5, n. 3, p.1-11, 27 mar. 2009
- Kimura, K. et al. Regulation of Myosin Phosphatase by Rho and Rho-Associated Kinase (Rho-Kinase). *Science*, v. 273, n. 5272, p.245-248, 12 jul. 1996
- Kitahara, CM. et al. Association between Class III Obesity (BMI of 40–59 kg/m²) and Mortality: A Pooled Analysis of 20 Prospective Studies. *Plos Medicine*, v. 11, n. 7, p.1-14, 8 jul. 2014
- Lautner, RQ et al. Discovery and characterization of alamandine: A novel component of the renin-angiotensin system. *Circulation Research* 2013, v. 112, n. 8, 1104–1111..
- Leal VO, Mafra D. Adipokines in obesity. *Cin Chim Acta* 2013; 419: 87-94.
- Lee RM et al. Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. *J Hypertens* 2009; 27: 782–790.
- Lee Y-C et al. Role of perivascular adipose tissue-derived methyl palmitate in vascular tone regulation and pathogenesis of hypertension. *Circulation* 2011; 124: 1160-1171.
- Lin, S et al. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International Journal Of Obesity*, v. 24, n. 5, p.639-646, maio

2000. Springer Nature

Löhn M et al. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J* 2002; 16: 1057-1063.

Lu C et al. Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte derived angiotensin II. *Eur J Pharmacol* 2010; 634: 107-112.

Lung, T et al. Impact of overweight, obesity and severe obesity on life expectancy of Australian adults. *International Journal Of Obesity*, v. 43, n. 4, p.782-789, 3 out. 2018

Lutz TA, Woods SC. Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*. 2012; Chapter 5:Unit 5.61.

Ma, Liqun et al. Perivascular fat-mediated vascular dysfunction and remodeling through the AMPK/mTOR pathway in high-fat diet-induced obese rats. *Hypertension Research*, v. 33, n. 5, p.446-453, 26 fev. 2010.

Maenhaut N, Van de Voorde J. Regulation of vascular tone by adipocytes. *BMC Med* 2011; 16: 9-25.

Marchesi, C et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Uncoupling and Perivascular Adipose Oxidative Stress and Inflammation Contribute to Vascular Dysfunction in a Rodent Model of Metabolic Syndrome. *Hypertension*, v. 54, n. 6, p.1384-1392, out. 2009.

Mark, Allyn et al. Contrasting blood pressure effects of obesity in leptin-deficient ob/ob mice and agouti yellow obese mice. *Journal Of Hypertension*, v. 12, n. 17, p.1949-1953, dez. 1999

Meijer RI et al. Perivascular adipose tissue and its role in type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Curr Diab Rep* 2011; 11: 211-217.

- Miao CY, Li ZY. The role of perivascular adipose tissue in vascular smooth muscle cell growth. *Br J Pharm* 2012; 165: 643–658.
- Moraes, P. L. et al. Cardiovascular effects of small peptides of the renin angiotensin system. *Physiological Reports*, v. 5, n. 22, p. e13505, 2017.
- Ng, M et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, v. 384, n. 9945, p.766-781, ago. 2014
- Nguyen Dinh Cat A, Touyz RM. A new look at the renin-angiotensin system – focusing on the vascular system. *Peptides* 2011; 32: 2141-2150.
- Nóbrega, N et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide induce anticontractile effect of perivascular adipose tissue via renin angiotensin system activation. *Nitric Oxide*, v. 84, p.50-59, mar. 2019
- Ozen G et al. Control of human vascular tone by prostanoids derived from perivascular adipose tissue. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2013; 107: 13-17.
- Peluso, AA et al. Identification of protein phosphatase involvement in the AT₂ receptor-induced activation of endothelial nitric oxide synthase. *Clinical Science*, v. 132, n. 7, p.777-790, 14 mar. 2018
- Police SB et al. Obesity promotes inflammation in periaortic adipose tissue and angiotensin II – induced abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1458-1464.
- Raizada V et al. Intracardiac and intrarenal renin–angiotensin systems: mechanisms of cardiovascular and renal effects. *J Investig Med* 2007; 55: 341–359.
- Romero-Calvo I, Ocón B, Martínez-Moya P, Suárez MD, Zarzuelo A, Martínez-

- Augustin O, De Medina FS. Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. *Anal Biochem.* 15;401(2):318-20, 2010.
- Sampaio, WO et al. Angiotensin-(1-7) Through Receptor Mas Mediates Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation via Akt-Dependent Pathways. *Hypertension*, v. 49, n. 1, p.185-192, nov. 2006.
- Savoia, C et al. Negative regulation of RhoA/Rho kinase by angiotensin II type 2 receptor in vascular smooth muscle cells: role in angiotensin II-induced vasodilation in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Journal Of Hypertension*, v. 23, n. 5, p.1037-1045, maio 2005
- Schleifenbaum J et al. Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and hydrogen sulfide. *J Hypertens* 2010; 28: 1875-1882.
- Schmid, GM. et al. Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. *Proteomics*, v. 4, n. 8, p.2270-2282, ago. 2004
- Schreyer, SA. et al. C57BL/6 mice fed high fat diets as models for diabetes-accelerated atherosclerosis. *Atherosclerosis*, v. 136, n. 1, p.17-24, jan. 1998.
- Shum, M et al. Angiotensin II type 2 receptor promotes adipocyte differentiation and restores adipocyte size in high-fat/high-fructose diet-induced insulin resistance in rats. *American Journal Of Physiology-endocrinology And Metabolism*, v. 304, n. 2, p.197-210, 15 jan. 2013
- Siegel-Axel DI, Häring HU. Perivascular adipose tissue: an unique fat compartment relevant for the cardiometabolic syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2016; 17: 51-60.
- Silva RNO. Efeito protetor do baço contra a resposta inflamatória do tecido adiposo perivascular do leito mesentérico de camundongos obesos. São Paulo:

Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2018.

Singh, KD; Karnik, SS. Angiotensin Receptors: Structure, Function, Signaling and Clinical Applications. J Cell Signal., v. 2, n. 1, p.1-8, jun. 2016

Soares, AG. Obesidade induz alterações artéria-específica: avaliação da função endotelial e do fenótipo das células musculares lisas. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2014.

Soares, AG; Carvalho, MHC; Akamine, EH. Obesity Induces Artery-Specific Alterations: Evaluation of Vascular Function and Inflammatory and Smooth Muscle Phenotypic Markers. Biomed Research International, v. 2017, p.1-10, 2017

Soltis E, Cassis LA. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. Clin Exp Hypertens 1991; 13: 277-296.

Steckelings, U et al. Impact of AT2-receptor stimulation on vascular biology, kidney function, and blood pressure. Integrated Blood Pressure Control, p.153-161, nov. 2013

Sundaram, S; Yan, n. Time-restricted feeding reduces adiposity in mice fed a high-fat diet. Nutrition Research, v. 36, n. 6, p.603-611, jun. 2016

Sysoeva, VY. et al. Local angiotensin II promotes adipogenic differentiation of human adipose tissue mesenchymal stem cells through type 2 angiotensin receptor. Stem Cell Research, v. 25, p.115-122, dez. 2017

Victorio, JA. et al. Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. Frontiers In Physiology, v. 7, p.1-10, 12 jul. 2016

VIGITEL – Vigilância De Fatores De Risco E Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico. Ministério da Saúde, 2017

Verlohren S et al. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. Hypertension 2004; 44: 271-276.

Wang Y et al. A prospective study of waist circumference and body mass index in relation to colorectal cancer incidence. Cancer Causes Control 2008; 19: 783-792.

Williams, Td et al. Diet-induced obesity and cardiovascular regulation in C57BL/6J mice. Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology, v. 30, n. 10, p.769-778, out. 2003

World Health Organization. 2017,
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

Xia, N et al. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice Significance. Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology, v. 36, n. 1, p.78-85, nov. 2015.

Yu, L. et al. Angiotensin-(1-5), an active mediator of renin-angiotensin system, stimulates ANP secretion via Mas receptor. Peptides, v. 86, p. 33–41, 201

Yvan-Charvet, L. et al. Deletion of the Angiotensin Type 2 Receptor (AT2R) Reduces Adipose Cell Size and Protects From Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. Diabetes, v. 54, n. 4, p.991-999, 25 mar. 2005