

Rodrigo Azevedo Loiola

**VENOCONSTRIÇÃO INDUZIDA POR ANGIOTENSINA II
EM RATOS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS: ESTUDO DE MECANISMOS DE
AÇÃO, LOCALIZAÇÃO E EXPRESSÃO
DE RECEPTORES AT₁ E AT₂**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Ciências Biomédicas
da Universidade de São Paulo
para obtenção do título
de Mestre em Ciências
Área de concentração: Farmacologia

Orientação: Prof. Dr. Maria Helena Catelli de Carvalho

São Paulo
2007

RESUMO

LOIOLA, R.A. **Venoconstrição induzida por Angiotensina II em ratos normotensos e hipertensos**: estudo de mecanismos de ação, localização e expressão de receptores AT₁ e AT₂. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

O presente estudo pretende investigar a venoconstrição induzida por Angiotensina II (Ang II) em anéis de veia porta (AVP) e leito venular mesentérico (LVM) e identificar a expressão e localização de receptores AT₁ e AT₂ em veia porta de ratos Wistar e SHR. O LVM foi perfundido em fluxo constante de 2 ml/min e a reatividade para Ang II (0.1nmol), *in bolus*, foi avaliada como alteração na pressão de perfusão (mmHg). Anéis de veia porta foram montados em sistema de órgãos isolados e curvas de concentração efeito cumulativa para Ang II (0.1-100 nmol/L) foram construídas. A reatividade vascular foi avaliada como alteração de tensão (gramas). A reatividade para Ang II foi estudada na ausência ou presença dos seguintes fármacos isoladamente: losartan (antagonista do receptor AT₁); PD 123319 (antagonista do receptor AT₂); indometacina (inibidor da COX); L-NAME (inibidor da síntese de NO); HOE 140 (antagonista do receptor B₂); apocinina (inibidor da NADPH oxidase). Os animais SHR foram também tratados com celecoxib (inibidor específico da COX2). Para verificar a expressão gênica dos receptores AT₁, AT₂ e B₂ foi utilizado PCR em Tempo Real e imunohistoquímica, para verificar a expressão e localização de receptores AT₁ e AT₂ em veia porta de Wistar e SHR. Os estudos de reatividade vascular sugerem que a Ang II induz venoconstrição através da ativação de receptores AT₁ e AT₂ em vasos sanguíneos de ratos Wistar e receptor AT₁ naqueles de SHR. A venoconstrição induzida por Ang II parece ser contrabalanceada pelo receptor B₂ em ambas as espécies. Em ratos Wistar, o óxido nítrico parece contribuir para este efeito e em SHR, metabólitos da COX2 parecem estar envolvidos na reatividade da Ang II de LVM e da COX1 em AVP. Houve redução da venoconstrição induzida por Ang II em AVP de SHR que pode estar relacionado à redução da expressão protéica de receptores AT₂. Esses resultados indicam diferentes mecanismos de regulação do tônus venoso de ratos Wistar e SHR em resposta a Ang II que podem ter relevância no controle do retorno venoso e débito cardíaco.

Palavras Chave: Sistema Venoso, Angiotensina II, Sistema Renina Angiotensina, Hipertensão

ABSTRACT

LOIOLA, R.A. **Angiotensin II – induced venoconstriction in normotensive and hypertensive rats:** study of action mechanisms, localization and expression of AT₁ and AT₂ receptors. Dissertation (Master's in Pharmacology). Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

The aim of this study was investigate the Angiotensin II (Ang II) – induced venoconstriction in the portal vein rings (PVR) and isolated perfused mesenteric venular bed (MVB) and also identify the expression and localization of AT₁ and AT₂ receptors in portal vein of SHR and Wistar rats. MVB were perfused at 2ml/min in a constant flow rate and the reactivity to Ang II (0.1 nmol), *in bolus*, was evaluated as changes in the perfusion pressure (mmHg). RPV were mounted in an organ bath chambers and cumulative concentration effect curves to Ang II (0.1-100 nmol/L) were generated. The vascular reactivity was evaluated as tension alterations (grams) in PVR. Vascular reactivity to Ang II was studied in the absence or presence of the following drugs: losartan (AT₁ receptor antagonist), or PD123319 (AT₂ receptor antagonist); L-NAME (NO sintase inhibitor); indomethacin (COX inespecific inhibitor); apocynin (NADPH oxidase inhibitor). SHR was also treated with celecoxib (COX2 specific inhibitor). In order to identify AT₁, AT₂ and B₂ receptors mRNA expression PCR Real Time was used and imunohistochemistry technic to verify AT₁ and AT₂ receptors protein expression in portal vein of SHR and Wistar rats. The vascular reactivity studies suggest that Ang II induces venoconstriction by activation of AT₁ and AT₂ receptors in Wistar and AT₁ receptor in SHR. These venoconstriction seems to be counterbalanced by B₂ receptor in both species. In Wistar rats, nitric oxide might contribute to this effect; however in the SHR, COX2 metabolites seems to be involved in the reactivity to Ang II in isolated perfused MVB and COX1 in PVR. There was a decrease in Ang II induced venoconstriction in PVR of SHR that might be related to the decrease of protein expression of AT₂ receptor. These results indicate different mechanisms of regulation of venous tonus of the SHR and Wistar rats induced by Ang II that can be relevant in the control of the venous return and cardiac output.

Key words: Venous system, Angiotensin II, Renin Angiotensin System, hypertension.

intracelular, embora já tenham sido clonados os receptores AT₃ e AT₄ (ALLEN *et al.*, 2000; SADOSHIMA, 1998; SIRAGY, 2000).

O receptor AT₁ é o responsável pelas principais atividades fisiológicas e fisiopatológicas da Ang II, incluindo aumento do tônus vascular, hipertrofia do músculo liso vascular e síntese de matriz extracelular (ALLEN *et al.*, 2000; SIRAGY, 2000). Apresenta estrutura típica de um receptor acoplado a proteína G, possuindo sete domínios transmembrânicos (SADOSHIMA, 1998). Em humanos, o gene para o receptor AT₁ está localizado no cromossomo 3 e a proteína é expressa em diversos tecidos do corpo, incluindo rins, glândula supra-renal, coração, cérebro e vasos sanguíneos (ALLEN *et al.*, 2000).

O receptor AT₂ também pertence à família dos receptores acoplados a proteína G, com sete domínios transmembrânicos (SIRAGY, 2000). O gene do receptor AT₂ está localizado no cromossomo X e apresenta apenas 34% de sua seqüência de aminoácidos homóloga ao receptor AT₁ (NAHMIAS *et al.*, 1995). O receptor AT₂ é normalmente expresso em altos níveis em tecidos fetais e diminui sua expressão drasticamente após o nascimento (NAHMIAS *et al.*, 1995). Em ratos adultos os receptores AT₂ são expressos principalmente nos vasos sanguíneos, miocárdio, glândula supra-renal, útero, ovário e cérebro (NAHMIAS *et al.*, 1995; SIMON *et al.*, 1998). Além do mais, em humanos adultos foi identificada a expressão de receptores AT₂ em aorta e artérias coronárias (WATANABE, 2005).

A ativação do receptor AT₂ pela Ang II promove aumento dos níveis de bradicinina (BK) e estimula a liberação de óxido nítrico (NO) pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Estas ações acarretam em aumento da biodisponibilidade do NO que promove redução da expressão gênica do receptor AT₁ (ICHIKI *et al.*, 1998; TSUTSUMI *et al.*, 1999; YAN *et al.*, 2003).

Estudos demonstram que a ativação do receptor AT₂ estimula a produção de BK, NO e GMP cíclico, mediando resposta vasodilatadora, em vários leitos vasculares de diferentes espécies animais, que se opõe à ativação do receptor AT₁ e que os efeitos benéficos dos bloqueadores de receptor AT₁ sejam atribuídos a estimulação do receptor AT₂ (CAREY, 2005). Estudos realizados em camundongos nos quais o receptor AT₂ foi deletado demonstram que estes animais têm aumento de resposta vasopressora para

Ang II e aumento de incidência de infarto do miocárdio e derrame cerebral, indicando que o receptor AT₂ protege o coração e o cérebro em eventos isquêmicos (IWAI *et al.*, 2004; WHARTON *et al.*, 1998).

Foi descrito que a estimulação de receptores AT₂ promove estimulação da produção de ácido araquidônico, inibição de hiperplasia, angiogênese, liberação de fatores de crescimento e indução de apoptose (DIEP *et al.*, 1999; NAHMIAS *et al.*, 1995; SIRAGY, 2000).

No músculo liso vascular a ativação do receptor AT₁ pela Ang II resulta em ativação da enzima fosfolipase C (PLC), aumentando a formação de trifosfato de inositol (IP₃) e diacilglicerol (DAG), acarretando em aumento dos níveis intracelulares de Ca⁺², provocando potente vasoconstrição (TOUYZ *et al.*, 2000).

A ativação do receptor AT₁ pela Ang II facilita a liberação de norepinefrina pelos neurônios adrenérgicos e aumenta a síntese e liberação de aldosterona pelo córtex da glândula supra-renal, além de induzir a expressão do RNAm de receptor de endotelina-1 (ET₁) (KIM *et al.*, 2000). A Ang II também estimula a liberação de diversos eicosanóides como as prostaglandinas PGE₂, PGI₂, PGF_{2α} e tromboxano A₂ (TXA₂), compostos vasoativos que desempenham um importante papel no controle do tônus vascular (NASJLETTI, 1997), além de induzir o aumento de expressão da enzima cicloxigenase 2 (COX-2), produzindo metabólitos envolvidos em processos de aterosclerose e angiogênese (KRAMER *et al.*, 2002).

A ativação do receptor AT₁ pela Ang II também está relacionada com aumento da síntese e liberação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), fator de crescimento transformador-β (TGF-β) e MAP quinase, causando alterações estruturais cardiovasculares incluindo a hipertrofia cardíaca (BOOZ *et al.*, 1996; GIBBONS, 1998; KIM *et al.*, 2000), do músculo liso vascular (GIBBONS, 1998; KIM *et al.*, 2000; SIMON *et al.*, 1998) e estimulação da síntese de matriz extracelular no coração (BOOZ *et al.*, 1996; GIBBONS, 1998) e nos vasos (KIM *et al.*, 2000; SIMON *et al.*, 1998), resultando em fibrose e remodelamento destes tecidos. Estudos sugerem que estas alterações vasculares e cardíacas são ocasionadas por estimulação direta desses tecidos pela

1 INTRODUÇÃO

A Angiotensina II (Ang II) é um octapeptídeo multifuncional que possui inúmeras ações no músculo liso vascular, desempenhando um papel fundamental no controle da integridade funcional e estrutural do sistema vascular, nos processos fisiológicos que controlam a pressão arterial e mecanismos patológicos que levam ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (TOUYZ *et al.*, 2000).

A Ang II é um componente do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), produzido sistemicamente em diversos tecidos. A enzima renina circulante, derivada das células justaglomerulares renais, cliva o angiotensinogênio, uma glicoproteína derivada do fígado, formando a angiotensina I, um decapeptídeo. A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), presente nas células endoteliais dos pulmões e de vários outros tecidos, converte a angiotensina I no octapeptídeo ativo Ang II. A Ang II pode ser degradada por diferentes peptidases, gerando fragmentos angiotensinérgicos (TOUYZ *et al.*, 2000). (Figura 1).

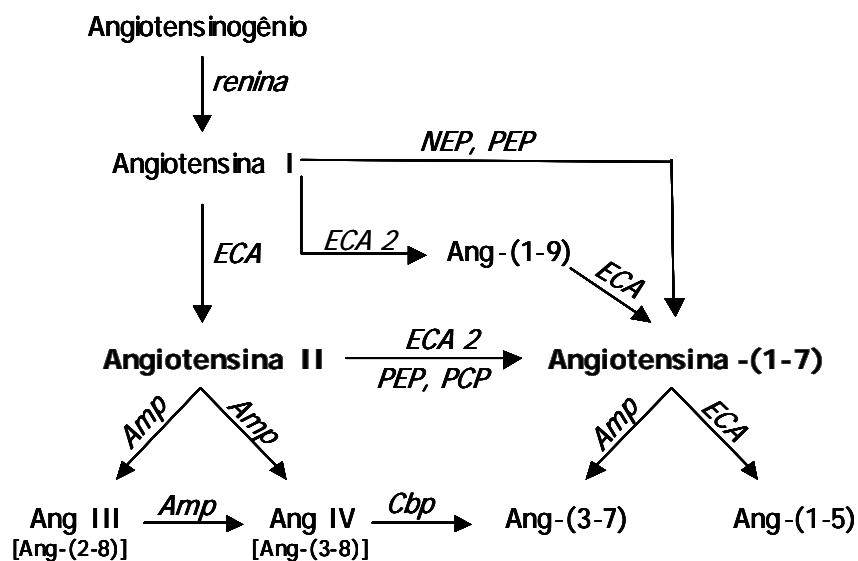


Figura 1: Vias proteolíticas de síntese e metabolização de angiotensinas.

Legenda: ECA: enzima conversora de angiotensina; PCP: prolil-carboxipeptidases; PEP: prolil-endopeptidases; NEP: endopeptidases neutras; Cbp: carboxipeptidases; Amp: aminopeptidases.

As ações biológicas da Ang II são mediadas principalmente através de sua ligação a dois receptores de membrana, AT₁ e AT₂, que ativam múltiplas vias de transdução

Ang II, independente do aumento da pressão arterial (KIM *et al.*, 2000; SIMON *et al.*, 1998).

A Ang II tem participação importante no processo inflamatório, promovendo acúmulo e adesão de leucócitos no endotélio vascular, através do estímulo à síntese de diversas moléculas de adesão como molécula de adesão intercelular tipo 1 (ICAM-1), molécula de adesão celular vascular (VCAM) e integrinas $\alpha_1\beta_3$ e β_5 (ALVAREZ *et al.*, 2001), além de modular os efeitos de LDL oxidada na célula endotelial, promovendo aterosclerose (WATANABE, 2005). Ang II também é responsável por aumentar a expressão proteica de inibidor de ativador de plasminogênio (PAI-1), associada ao infarto do miocárdio e aterosclerose, além de alterar a função da eNOS através da fosforilação de serinas e tirosinas que interagem com esta enzima (WATANABE, 2005).

A Ang II induz a ativação de NADPH oxidase, aumentando a geração de espécies reativas de oxigênio, principalmente o ânion superóxido (O_2^-) (GRIENDILING *et al.*, 1994; RAJAGOPALAN *et al.*, 1996), que está relacionado à indução de respostas como vasoconstrição, ativação plaquetária, expressão de moléculas de adesão celular, proliferação e hipertrofia celular (MCINTYRE *et al.*, 1999; OSKARSSON *et al.*, 1997).

A Ang II, através de sua ação no receptor AT_1 , exerce diversos efeitos no cérebro, incluindo a modulação do mecanismo de sede, controle central da pressão arterial e estimulação da liberação de hormônios pituitários (ALLEN *et al.*, 2000). Em resumo, a Ang II possui diversas ações que funcionam de forma coordenada no sentido da elevação da pressão arterial.

Estudos clínicos e farmacológicos demonstram um importante papel da Ang II no aumento da resistência vascular e na etiologia de alterações estruturais vasculares observadas na hipertensão. A administração de fármacos inibidores da ECA, que diminuem a geração de Ang II, e bloqueadores do receptor AT_1 resultam em diminuição da pressão arterial e inibição da hipertrofia e remodelamento vascular (BOOZ *et al.*, 1996; PELET *et al.*, 1995; MORSING *et al.*, 1999; RIZZONI *et al.*, 1998a, RIZZONI *et al.*, 1998b; SCHIFFRIN *et al.*, 1994; THYBO *et al.*, 1995).

Dickhout (1997) e Bodin *et al.* (1993) demonstraram que a vasoconstrição induzida por Ang II é maior em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) quando comparados com ratos normotensos (Wistar). Entretanto, em vários estudos não foram

demonstradas diferenças na expressão do receptor AT₁ e AT₂ entre ratos SHR e Wistar, sugerindo que a hiper-reatividade seja decorrente do aumento na sinalização pós-receptor destes animais (TOUYZ *et al.*, 2000).

O sistema venoso, constituído pelo conjunto de veias e vênulas, foi considerado durante muitos anos apenas como uma via passiva de condução de sangue dos tecidos para o coração, porém, atualmente sabe-se que este leito vascular responde a diversos estímulos que são capazes de controlar o tônus venoso, aumentando ou reduzindo a capacidade de armazenamento de sangue neste território (GUYTON e HALL, 2006).

Desta forma, o sistema venoso atua de forma ativa para o controle do retorno venoso, influenciando diretamente a pressão atrial direita e pressão de enchimento cardíaco, alterando o débito cardíaco, e conseqüentemente, o desempenho cardíaco, já que o coração é sensível a alterações destes fatores (GUYTON, 1955; GUYTON *et al.*, 1959 e ROTHE, 1983). Estas atribuições conferem ao sistema venoso um importante papel para a manutenção da homeostasia do sistema cardiovascular, sendo de grande importância o estudo de fatores que controlam o tônus deste leito vascular.

Em contraste com as artérias, veias e vênulas possuem parede vascular delgada e em comparação com o leito arterial, as veias possuem menos elastina e músculo liso, conferindo alta complacência a este leito vascular. (PANG, 2001). Estas características conferem ao sistema venoso a propriedade de capacitância do sistema cardiovascular, acomodando cerca de 65% do volume de sangue total do corpo humano (ROTHE, 1993) sendo responsável por cerca de 97 a 98% da complacência vascular total (SAFAR e LONDON, 1987).

O leito vascular esplâncnico (delimitado pelo baço, fígado e intestino) é o maior compartimento para acomodação do volume sangüíneo, com cerca de 38% do volume sangüíneo total (GREENWAY, 1983) sendo que 25% está acomodado no leito venoso esplâncnico (PANG, 2001). Em ratos anestesiados, tem sido relatado que cerca de 70% do volume microcirculatório está acomodado nas vênulas do intestino (PANG, 2001).

O mecanismo mais importante para o controle e regulação do tônus venoso é a inervação simpática, mediada através de receptores α -adrenérgicos (GREENWAY, 1983), porém diversos fatores podem influenciar, diretamente ou indiretamente, o tônus vascular venoso, incluindo hipercapnia, hipóxia, hormônios (ROTHE, 1993), fármacos,

catecolaminas e peptídeos vasoativos como endotelina, bradicinina e Ang II (LEE *et al.*, 1987; WARNER, 1990).

A diminuição do fluxo através do sistema venoso, em consequência de venoconstrição, causa redução passiva da pressão de distensão e do volume circulante, transferindo o sangue para o coração, influenciando o enchimento do átrio direito (pré-carga), a pressão de enchimento e o volume ventricular, afetando o débito e o trabalho cardíaco (LEE *et al.*, 1987; ROTHE, 1993).

Vários estudos comprovam que há aumento do tônus venoso e redução da complacência venosa e da propriedade de capacitância do compartimento venoso de animais e indivíduos hipertensos, sustentando a hipótese de que alterações no sistema venoso podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento da hipertensão (GREENBERG e BOHR, 1975; ITO *et al.*, 1986; LONDON *et al.*, 1978; MARTIN *et al.*, 1998; SAFAR e LONDON, 1987; SCHOBEL *et al.*, 1993; SIMON, 1976; SMITH e HUTCHINS, 1979; TAKESHITA e MARK, 1979; WIDGREN *et al.*, 1991).

Martin *et al.* (1998) observaram, em animais SHR entre quatro e dez semanas de idade, quando a hipertensão ainda não está estabelecida, aumento do tônus venoso. Greenberg e Bohr (1975) observaram que veias de animais SHR possuem menor capacidade de extensibilidade do que aquelas de ratos normotensos e que esta característica deve-se provavelmente a alterações estruturais na parede vascular de leito venoso. Ricksten *et al.* (1981) observaram redução da complacência venosa em SHR comparados a ratos normotensos e interpretaram que este comportamento deve-se principalmente a uma redução da complacência venosa periférica, transferindo o volume sangüíneo para compartimentos circulatórios centrais, como coração e pulmões. Simon (1976) observou que animais SHR possuem capacidade de acomodação de volume sangüíneo menor do que animais normotensos. Estudos demonstram que em animais SHR jovens, onde a hipertensão arterial ainda não está estabelecida, é observado aumento entre 23 e 33% do débito cardíaco em relação a animais normotensos, sem alteração de outros parâmetros (SMITH e HUTCHINS, 1979).

Estudos realizados em seres humanos demonstram que nos estágios iniciais de desenvolvimento de hipertensão limítrofe, há aumento da pré-carga que pode estar

implicado em alterações estruturais cardíacas observadas em estágios de hipertensão estabelecida (SCHOBEL *et al.*, 1993).

Estudos realizados em seres humanos em estágios de desenvolvimento de hipertensão limítrofe sem tratamento (TAKESHITA e MARK, 1979) e indivíduos normotensos com histórico familiar de hipertensão (ITO *et al.*, 1986; WIDGREN *et al.*, 1991) também demonstraram dados que indicam aumento do tônus venoso e diminuição da complacência venosa. Safar e London (1987) demonstraram redução da complacência e distensibilidade venosa sistêmica de indivíduos hipertensos, resultando em redução do compartimento venoso periférico (extratorácico) e aumento da pressão venosa central (pressão atrial direita), London *et al.* (1978) observaram redução de cerca de 25% da complacência venosa de seres humanos hipertensos em relação aos controles normotensos.

Apesar destas informações, pouco se sabe sobre os efeitos de Ang II em veias e vênulas de normotensos e hipertensos. Em ratos, a Ang II promove venoconstrição em anéis (MATHISON, 1983; PELET *et al.*, 1995) e segmentos longitudinais de veia porta (BLAIR-WEST *et al.*, 1972; GREENBERG e BOHR, 1975; MATHISON, 1983;) e em vênulas do leito mesentérico (WARNER, 1990), porém os mecanismos envolvidos ainda não foram totalmente esclarecidos.

Em trabalho recentemente realizado em nosso laboratório, demonstramos que a Ang II promove venoconstrição concentração-dependente em anéis de veia porta e em vênulas do leito mesentérico de ratos Wistar. Demonstramos que em veias e vênulas de ratos normotensos, a contração vascular induzida por Ang II parece ser dependente dos receptores AT₁ e AT₂ e que seu efeito é contrabalanceado pela produção de NO pelo endotélio venoso (FERNANDES *et al.*, 2005).

Diante disso, o presente estudo investigou as respostas venosas frente à estimulação com Ang II em veia porta e em vênulas de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Adicionalmente, o presente estudo identificou a expressão gênica e protéica de receptores AT₁ e AT₂ em veia porta de ratos Wistar e SHR.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo sugerem que:

- A Ang II promove potente vasoconstrição de vênulas mesentéricas e veia porta, indicando um importante papel deste peptídeo como modulador do tônus vascular dos leito analisados;
- Em animais Wistar, a venoconstrição induzida por Ang II é mediada através de receptores AT_1 e AT_2 e é contrabalanceada pela ativação de receptor B_2 e liberação de NO;
- Em animais SHR, a venoconstrição induzida por Ang II é mediada através de receptores AT_1 e é contrabalanceada pela ativação de receptores B_2 e metabólitos da COX.

É verificada redução da resposta contrátil da Ang II em anéis de veia porta isolados de animais SHR quando comparadas as preparações de ratos Wistar e nossos resultados sugerem que este fenômeno está relacionado á:

- Redução da expressão protéica de receptores AT_2 nesta linhagem, já que tal receptor participa da venoconstrição induzida por Ang II
- A ativação de receptores B_2 em veia porta de animais SHR, promovendo efeito de contraposição aos efeitos contráteis da Ang II

Estes dados indicam mecanismos diferentes de regulação do tônus de leito venular mesentérico e veia porta de ratos Wistar e SHR em resposta a Ang II que podem ter relevância no controle do retorno venoso, pressão de enchimento ventricular e débito cardíaco desses animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, A.M.; ZHUO, J.; MENDELSON, F.A.O. Localization and function of angiotensin AT₁ receptors. **Am. J. Hypertens.**, v.13, p. S31-S38, 2000.

ALVAREZ, A.; *et al.* Angiotensin II is involved in nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition-induced leukocyte-endothelial cell interactions in vivo. **Br. J. Pharmacol.**, v.132, p. 677-684, 2001.

ARAÚJO, M.C.; *et al.* Internally quenched fluorogenic substrates for angiotensin I-converting enzyme. **J. Hypertens.** , v. 17, p. 665-72, 1999.

BLAIR-WEST, J.R.; MCKINLEY, M.J.; MCKENZIE, J.S. Effect of frusemide on the reactivity of rat portal vein. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 24, p. 442-446, 1972.

BODIN, P.; *et al.* High sensitivity of hypertensive aortic myocytes to norepinephrine and angiotensin. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. C441-C445, 1993.

BOOZ, G.W.; BAKER, K.M. Role of type 1 and type 2 angiotensin receptors in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. **Hypertension**, v. 28, p. 635-640, 1996.

CAMPOS, A.H.; CALIXTO, J.B. Mechanisms involved in the contractile responses of kinins in rat portal vein rings: mediation by B1 and B2 receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 268, p. 902-909, 1994

CAREY, R.M. Update on the role of the AT₂ receptor. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v.14, p.67-71, 2005.

CERAVOLO, G.S. Angiotensin II chronic infusion induces B1 receptor expression in aorta of rats. **Hypertension.**, v. 50, p. 756-61, 2007.

CHAMPLAIN, J.; *et al.* Oxidative stress in hypertension. **Clin. Exp. Hypertens.**, v. 26, p. 593-601, 2004.

CHATZIANTONIOU, C.; ARENDSHORST, W.J. Angiotensin receptor sites in renal vasculature of rats developing genetic hypertension. **Am. J. Physiol.**, v. 265, p. F853-F862, 1993.

CHOU, T.C.; *et al.* Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 31, p. 643-648, 1998.

COSENTINO, F.; *et al.* Angiotensin II type 2 receptors contribute to vascular responses in Spontaneously Hypertensive Rats treated with Angiotensin II type 1 receptor antagonists. **Am. J. Hypertens.**, v. 18, p. 493-499, 2005.

CORTES, S.F.; ANDRIANTSITOHAINA, R.; STOCLET, J.C. Alterations of cyclooxygenase products and NO in responses to angiotensin II of resistance arteries from the spontaneously hypertensive rat. **Br. J. Pharmacol.**, v.119, p. 1635-41, 1996.

DICHOUT, J.G.; LEE, R.M.K.W. Structural and functional analysis of small arteries from young spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 29, p. 781-789, 1997.

DIEP, Q.N.; LI, J.S.; SCHIFFRIN, E.L. In vivo study of AT₁ and AT₂ angiotensin receptors in apoptosis in rat blood vessels. **Hypertension**, v. 34, p. 617-624, 1999.

DOMINICZAK, A.F.; BOHR, D.F. Vascular smooth muscle in hypertension. **J. Hypertens.**, v.7, p. S107-S115, 1989.

FERNANDES, L.; *et al.* Angiotensin II induced venoconstriction involves AT1 and AT2 receptors and is counterbalanced by nitric oxide. **Peptides**, v 26, p. 2458-2463, 2005.

FERNANDEZ-ALFONSO, M.S.; *et al.* Differential regulation of vascular angiotensin I-converting enzyme in hypertension. **Hypertension**, v. 24, p. 280-286, 1994.

FLEMING, J.T.; HARRIS, P.D.; JOSHUA, I.G. Endogenous prostaglandins selectively mask large arteriole constriction to angiotensin II. **Am. J. Physiol.**, v. 253, p. H1573-80, 1987.

FOLKOW B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiol. Reviews**, v. 62, p. 347-504, 1982.

FUKADA, S.Y.; *et al.* Mechanisms underlying the endothelium-independent relaxation induced by angiotensin II in rat aorta. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 45, p.136-43, 2005.

GIBBONS, G.H. The pathophysiology of hypertension: the importance of angiotensin II in cardiovascular remodeling. **Am. J. Hypertens.**, v. 11, p. S177-S181, 1998.

GOHLKE, P.; PEES, C.; UNGER, T. AT2 receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism. **Hypertension.**, v. 31, p. 349-55, 1998.

GREENBERG, S.; BOHR, D.F. Venous smooth muscle in hypertension: enhanced contractility of portal veins from spontaneously hypertensive rats. **Circ. Res.**, v. 36, p. 208-215, 1975, suppl. 1.

GREENWAY, C.V. Role of splanchnic venous system in overall cardiovascular homeostasis. **Fed. Proc.**, v. 42, p.1678-1684, 1983.

GRIENDILING, K.K.; *et al.* Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. **Circ. Res.**, v. 74, p. 1141-1148, 1994.

GRIMA, M.; WELSCH, C.; GIESEN-CROUSE, E.M. *et al.* Age-related variations in tissue angiotensin converting enzyme activities: comparison between spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **J. Hypertens.**, v. 8, p. 697-702, 1990.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Tratado de fisiologia médica. 11ª edição, Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2006.

GUYTON, A.C. Determination of cardiac output by equating venous return curves with cardiac response curves. **Physiol. Rev.**; v. 35, p.123-9, 1955.

GUYTON, A.C.; ABERNATHY, B.; LANGSTON, J.B. *et al.* Relative importance of venous and arterial resistances in controlling venous return and cardiac output. **Am. J. Physiol.**, v. 196, p. 1008-1014, 1959.

HADDAD, G.; GARCIA, R. Effect of Angiotensin-converting enzyme two-week inhibition on renal Angiotensin II receptors and renal vascular reactivity in SHR. **J. Mol. Cel. Cardiol.**, v. 29, p. 813-822, 1997.

HAYASHI, K.; SUZUKI, H.; SARUTA, T. Segmental differences in angiotensin receptor subtypes in interlobular artery of hydronephrotic rat kidneys. **Am. J. Physiol.**, v. 265, p. F881-F885, 1993.

HÖCHERL, K.; *et al.* Cyclooxygenase -2 inhibition increases blood pressure in rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 136, p. 1117-1126, 2002.

ICHIKI, T.; *et al.* Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. **Hypertension**, v. 31, p. 342–348, 1998.

ITO, N.; *et al.* Venous abnormality in normotensive young men with a family history of hypertension. **Hypertension**, v. 8, p. 142-146, 1986.

IWAI, M.; *et al.* Possible Inhibition of Focal Cerebral Ischemia by Angiotensin II Type 2 Receptor Stimulation. **Circulation**, v.110, p. 843–848, 2004.

JACKSON, E.K.; HERZER, W.A. Angiotensin II/prostaglandin I₂ interactions in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 22, p. 688-98, 1993.

KASHIWAGI, S.; *et al.* Nonendothelial source of nitric oxide in arterioles but not in venules: alternative source revealed in vivo by diaminofluorescein microfluorography. **Circ. Res.**, v. 91, p. 55-64, 2002.

KIM, S.; IWAO, H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. **Pharmacol. Rev.**, v.52, p.12-34, 2000.

KRAMER, C.; *et al.* Angiotensin II receptor-independent antiinflammatory and antiaggregatory properties of losartan: role of the active metabolite EXP3179. **Circ. Res.**, v. 90, p. 770–776, 2002.

LEE, R.W.; *et al.* Peripheral circulatory of preload-afterload mismatch with angiotensin in dogs. **Am. J. Physiol.**, v. 253, p. H126-H132, 1987.

LEVY, B.I. How to explain the differences between Renin Angiotensin System modulators. **Am. J. Hypertens.**, v. 18, p.134-141

LONDON, G.M.; *et al.* Total effective compliance, cardiac output and fluid volumes in essential hypertension. **Circulation**, v. 57, p. 995-1000, 1978.

MAJID, D.S.; *et al.* Superoxide scavenging attenuates renal responses to ANG II during nitric oxide synthase inhibition in anesthetized dogs. **Am. J. Physiol.**, v. 288, p. F412-F419, 2005.

MARTIN, D.S.; RODRIGO, M.C.; APPELT, C.W. Venous tone in the developmental stages of spontaneous hypertension. **Hypertension**, v. 31, p. 139-144, 1998.

MATHISON, R. Actions of neurotransmitters and peptides on longitudinal and circular muscle of the rat portal vein. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 35, p. 34-37, 1983.

MACADAM, B.F.; *et al.* Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX) – 2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 96, p. 272-277, 1999.

MCINTYRE, M.; BOHR, D.F.; DOMINICZAK, A.F. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. **Hypertension**, v. 34, p. 539-545, 1999.

MORSING, P.; *et al.* Mechanistic differences of various AT₁-receptor blockers in isolated vessels of different origin. **Hypertension**, v. 33, p.1406-1413, 1999.

MOURA, R.S.; *et al.* The role of bradykinin, AT₂ and angiotensin 1-7 receptor in the EDRF-dependent vasodilator effect of angiotensin II on the isolated mesenteric vascular bed of the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 141, p. 860-866, 2004.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 109-42, 1991.

MULVANY, M.J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **Physiol. Rev.**, v. 70, p. 921-961, 1990.

MUSCARÁ NM; VERGNOLLE N; LOVREN F; TRIGGLE CR; ELLIOT SN; ASFAHA S E WALLACE JL. Selective cyclo-oxygenase inhibition with celecoxib elevates blood pressure and promotes leukocyte adherence. **Br. J. Pharmacol.**, v. 129, p. 1423-1430, 2000.

NAHMIAS, C.; STROSBURG, A.D. The angiotensin AT₂ receptor: searching for signal-transduction pathways and physiological function. **Trends. Pharmacol. Sci.**, v. 16, p. 223-225, 1995.

NAKAMURA, Y.; *et al.* Vascular angiotensin converting enzyme activity in spontaneously hypertensive rats and its inhibition with cilazapril. **J. Hypertens.**, v. 6, p. 105-110, 1988.

NASJLETTI, A. The role of eicosanoids in angiotensin-dependent hypertension. **Hypertension**, v. 31, p. 194-200, 1997.

OZAWA, Y.; *et al.* Free radical activity depends on underlying vasoconstrictors in renal microcirculation. **Clin. Exp. Hypertens.**, v. 26, p. 219-229, 2004.

OSKARSSON, H.J.; HEISTAD, D.D. Oxidative stress produced by angiotensin: implications for hypertension and vascular injury. **Circulation**, v. 95, p. 557-559, 1997.

OTSUKA, S.; *et al.* Interaction of mRNAs for angiotensin II type 1 and type 2 receptors to vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension.**, v. 32, p. 467-472, 1998.

PANG, C.C.Y. Autonomic control of the venous system in health and disease: effects of drugs. **Pharmacol. Ther.**, v. 90, p. 179-230, 2001

PELET, C.; *et al.* Angiotensin II receptor subtypes and contractile responses in portal vein smooth muscle. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 279, p. 15-24, 1995.

PFAFFL, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Res.**, v. 29, p. E45

QI, Z. *et al.* Opposite effects of cyclooxygenase-1 and -2 activity on the pressor response to angiotensin II. **J Clin Invest.**; v. 110, p. 61-69.

RAJAGOPALAN, S.; *et al.* Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations of vasomotor tone. **J. Clin. Investigation**, v. 97, p. 1916-1923, 1996.

QIU, H.Y.; *et al.* Decreased flow induced dilation and increased production of cGMP in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 32, p. 1098-1103, 1998.

RAY, R.; SHAH, A.M. NADPH oxidase and endothelial cell function. **Clin. Sci**, v. 109, p. 217-226. 2005.

RICKSTEN, S.E.; YAO, T.; THOREN, P. Peripheral and central vascular compliances in conscious normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Acta Physiol. Scand.**, v. 112, p. 169-177, 1981.

RIGANTI, C.; *et al.* The NADPH oxidase inhibitor apocynin (acetovanillone) induces oxidative stress. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 212, p. 179-187, 2006.

RIZZONI, D.; *et al.* Effects of losartan and enalapril on small artery structure in hypertensive rats. **Hypertension**, v. 32, p. 305-310, 1998.

RIZZONI, D.; *et al.* Effects of candesartan cilexetil and enalapril on structural alterations and endothelial function in small resistance arteries of spontaneously hypertensive rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 32, p. 798-806, 1998.

ROTHER, C.F. Mean circulatory filling pressure: its meaning and measurement. **J. Appl. Physiol.**, v. 74, p. 499-509, 1993.

ROTHER, C.F. Reflex control of veins and vascular capacitance. **Physiol. Rev.**, v. 63, p. 1281-1342, 1983.

RUAN, X.; *et al.* Renal vascular reactivity in mice: Ang II-induced vasoconstriction in AT1a receptor null mice. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 10, p. 2620-2630, 1999.

SADOSHIMA, J. Versatility of the angiotensin II type 1 receptor. **Circ. Res.**, v. 82, p. 1352-1355, 1998.

SAFAR, M.E.; LONDON, G.M. Arterial and venous compliance in sustained essential hypertension. **Hypertension.**, v. 10, p. 133-139, 1987.

SCHIFFRIN, E.L.; DENG, L.Y.; LAROCHELLE, P. Effects of a β -blocker or a converting enzyme inhibitor on resistance arteries in essential hypertension. **Hypertension**, v. 23, p. 83-91, 1994.

SCHOBEL, H.P.; SCHMIEDER, R.E.; GATZKA, C.D.; MESSERLI, F.H. Acentripetal shift in intravascular volume triggers the onset of early cardiac adaptation in hypertension. **J. Hypertens.**, v. 11, p. S94-S95, 1993.

SEYED, N.; XU, X.; NASJLETTI, A.; HINTZE, T.H. Coronary kinin generation mediates nitric oxide release after angiotensin receptor stimulation. **Hypertension**, v. 26, p. 164-170, 1995.

SIMON, G.; ILLYES, G.; CSIKY, B. Structural vascular changes in hypertension: role of angiotensin II, dietary sodium supplementation, blood pressure, and time. **Hypertension**, v. 32, p. 654-660, 1998.

SIMON, G. Altered venous function in hypertensive rats. **Circ. Res.**, v. 38, p. 412-418, 1976.

SIRAGY, H.M. The role of the AT₂ receptor in hypertension. **Am. J. Hypertens.**, v. 13, p. S62-S67, 2000.

SMITH, T.; HUTCHINS, P. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. **Hypertension.**, v.1, p. 508-517, 1979.

SUDHIR, K.; *et al.* Altered venous responses to vasoconstrictor agonists and nerve stimulation in human primary hypertension. **J. Hypertens.**, v. 8, p. 1119-1128, 1990.
SUTTER, M.C. The mesenteric-portal vein in research. **Pharmacol. Rev.**; v. 42, p. 287-325, 1990.

TAKESHITA, A.; MARK, A.L. Decreased venous distensibility in borderline hypertension. **Hypertension**, v. 1, p. 202-206, 1979

THYBO, N.K.; *et al.* Effect of antihypertensive treatment on small arteries of patients with previously untreated essential hypertension. **Hypertension**, v. 25, p. 474-481, 1995.

TOUYZ, R.M.; *et al.* Role of AT₂ receptors in angiotensin II-stimulated contraction of small mesenteric arteries in young SHR. **Hypertension**, v. 33, p. 366-372, 1999.

TOUYZ, R.M.; SCHIFFRIN, E.L. Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. **Pharmacol. Rev.**, v. 52, p. 639-672, 2000.

TSUTSUMI, Y.; *et al.* Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. **J. Clin. Invest.**; v. 104, p. 925–935, 1999.

VEJRAZKA, M.; MICEK, R., STIPEK, S. Apocynin inhibits NADPH oxidase in phagocytes but stimulates ROS production in non-phagocytic cells. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1722, p. 143-147, 2005.

WARNER, T.D. Simultaneous perfusion of rat isolated superior mesenteric arterial and venous beds: comparison of their vasoconstrictor and vasodilator responses to agonists. **Br. J. Pharmacol.**, v. 99, p. 427-433, 1990.

WHARTON, J.; *et al.* Differential distribution of angiotensin AT₂ receptors in the normal and failing human heart. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**; v. 284, p. 323–336, 1998.

WATANABE, T.; BARKER, T.A.; BERK, B.C. Angiotensin II and the Endothelium: diverse signals and effects. **Hypertension**; v. 45, p. 163-169, 2005.

WIDGREN, B.R. Family history and pathophysiological mechanisms of primary hypertension. Studies in non-hypertensive young men with positive and negative family histories of hypertension. **Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl.** , v. 134, p.134-175, 1991.

WILSON, K.M.; MAGARGAL, W.; BERECEK, K.H. Long-term captopril treatment: angiotensin II receptors and responses. **Hypertension**, v. 11, p. 1148-1152, 1988, suppl. 1.

YAN, C.; et al. Functional interplay between angiotensin II and nitric oxide: cyclic GMP as a key mediator. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**; v. 23, p. 26–36, 2003.

YOSHIDA, M.; *et al.* Modulation by nitric oxide and prostaglandin of the renal vascular response to angiotensin II (3-8). **Br. J. Pharmacol.**, v. 117, p. 885-890, 1996.

YOU, D.; *et al.* High blood pressure reduction reverses Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasoconstriction into vasodilation in Spontaneously Hypertensive Rats. **Circulation**; v. 111, p. 1006-1011, 2005.

ZAGROSEK-REGITZ, V.; *et al.* Tissue- and subtype-specific modulation of angiotensin receptors by chronic treatment with cyclosporin A, angiotensin-converting enzyme inhibitors and AT1 antagonists. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 26, p. 66-72, 1995.

ZHOU, J.; *et al.* AT₁ receptor blockade regulates the local Angiotensin II system in cerebral microvessels from Spontaneously Hypertensive Rats. **Stroke**. v. 37, p. 1271, 2006.