

ESTUDO DA EXPRESSÃO DO GENE SAH E DO GENE CODIFICADOR DA PROTEÍNA ATRAP EM ÁREAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL E SUA RELAÇÃO COM A GÊNESE DA HIPERTENSÃO ESSENCIAL VERIFICADA EM RATOS SHR

Resumo

A hipertensão essencial é uma doença que afeta cerca de 20% da população adulta, chegando a 50% no caso dos idosos, sendo que os mecanismos de sua gênese ainda não são totalmente conhecidos.

O objetivo deste trabalho é investigar a expressão de dois genes relacionados aos mecanismos renais de controle da pressão arterial em três áreas do sistema nervoso central de ratos (bulbo dorsal, bulbo ventrolateral e hipotálamo) através da técnica de PCR em tempo real, avaliando, desta forma seu possível envolvimento nos mecanismos centrais relacionados à gênese da hipertensão em ratos espontaneamente hipertensos.

Um deles, o gene SAH, cujo papel ainda não foi totalmente caracterizado, tem apresentado taxas de transcrição mais altas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) em relação aos correspondentes normotensos WKY.

O segundo gene, codificador da proteína associada ao receptor AT₁ da angiotensina II (ATRAP) está relacionado com a internalização destes receptores, tendo, portanto, uma grande importância nos mecanismos reguladores da pressão arterial.

Nossos resultados mostram, pela primeira vez, a transcrição de ambos os genes nas três áreas do sistema nervoso relacionadas com o controle central da pressão arterial.

Ainda não foi possível estabelecer uma relação entre a expressão do gene SAH com o desenvolvimento da hipertensão em qualquer dos estágios do desenvolvimento da linhagem SHR.

O gene codificador da proteína ATRAP apresentou um aumento de expressão nos ratos hipertensos entre 1 e 2 meses de idade, período importante na gênese da hipertensão nesta cepa. Desta forma, este estudo demonstra a expressão de dois

genes caracterizados previamente nos rins em áreas importantes para a regulação central da pressão arterial em diferentes períodos de desenvolvimento de ratos SHR e WKY.

Abstract

Essential hypertension is a disease that affects nearly 20% of the adult population, reaching 50% of the elder, and the mechanisms of its genesis are not yet completely known.

This work aims to investigate two genes related to the renal mechanisms of blood pressure in three areas of the central nervous system (dorsal bulb, ventrolateral bulb and hypothalamus) by means of real time PCR, in order to evaluate their possible involvement in the central mechanisms of blood pressure control.

One of them is the SAH gene, whose role remains to be clarified. It has higher transcription rates in hypertensive rats (SHR) than in the correspondent normotensives WKY.

The other gene codifies the angiotensin II type 1 receptor associated protein (ATRAP) inducing its internalization. Thus, besides the transcriptional differences of the ATRAP protein between SHR and WKY rats, the ATRAP codifying gene is linked to blood pressure control played by means of the renin-angiotensin system through AT₁ receptors.

Our results provide evidence for the first time, on the expression of both genes in areas of the nervous system involved with the central blood pressure regulation.

It was not possible to establish a relationship between the SAH gene expression and the development of hypertension in the SHR rat.

The expression of the ATRAP codifying gene was increased in the SHR between 1 and 2 months of age, which is an important period for hypertension development in this strain.

Thus, this study shows the expression of SAH gene and ATRAP codifying gene in areas of the nervous system of SHR and WKY important for the central regulation of blood pressure.

Introdução: A pressão arterial é um dos parâmetros vitais mais importantes à manutenção da vida.

Níveis adequados de pressão são responsáveis pela correta perfusão sanguínea em todos os órgãos e tecidos do organismo, de acordo com as suas necessidades momentâneas, possibilitando o fornecimento de nutrientes, oxigênio e hormônios, a chegada de células de defesa, além de promover o carreamento de metabólitos, dos locais de origem às vias de eliminação, evitando, assim, um acúmulo potencialmente tóxico ao organismo (Navar, 2005).

Desta forma, o ajuste fino da pressão arterial (PA) é indispensável e a sua regulação é atribuída a vários sistemas trabalhando em conjunto em uma complexa e precisa interconexão.

Fisicamente, a PA é determinada pela força que o sangue exerce nas paredes dos vasos, dependendo, basicamente, do produto de dois fatores: a resistência periférica (RP) e o débito cardíaco (DC) ($PA = RP \times DC$) (Aires, 1999). O débito cardíaco é definido como a quantidade de sangue que o coração lança na circulação a cada contração, e a resistência periférica é definida como a resistência que os vasos oferecem à passagem do sangue.

Os sistemas de ajuste da pressão arterial podem ser classificados de acordo com seu modo de ação, podendo ser divididos em mecanismos de ajuste a longo prazo, realizado pelo sistema renal, e de curto prazo, realizados majoritariamente pelo sistema nervoso central (Cowley, 1992). Nos próximos tópicos estes dois sistemas serão abordados mais detalhadamente.

1.1 O sistema renal no controle da pressão arterial

De forma simplificada, o sistema renal promove seus efeitos na regulação da pressão arterial de forma relativamente lenta, porém duradoura, agindo basicamente por dois mecanismos: o mecanismo hemodinâmico e o mecanismo hormonal.

No mecanismo hemodinâmico, o controle da PA é feito através do controle no volume de fluido contido no sistema circulatório. Por exemplo, no caso de um aumento na pressão arterial, pode-se observar um acréscimo

direto na taxa de filtração glomerular, promovendo um aumento na quantidade de urina produzida. A eliminação da urina diminui o volume total de fluído no sistema circulatório, que por sua vez culmina com a redução do débito cardíaco, trazendo a PA aos níveis basais, uma vez que, como visto anteriormente, a pressão arterial depende diretamente deste parâmetro. A variação no volume de líquido extracelular é visto como um dos mais potentes e importantes mecanismos de manutenção da PA nos níveis adequados (Guyton, 1989).

Por outro lado, uma queda na PA também promove sinais que promoverão a sua elevação aos níveis normais, de forma inversa à explicada anteriormente.

Já com relação ao controle hormonal o principal mecanismo de ação é o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Ele é o mais importante mecanismo de regulação das funções renais e cardiovasculares (Carey e Siragy, 2003; Schmieder, Hilgers *et al.*, 2007).

A ativação do SRAA tem início com um sinal desencadeado por uma diminuição momentânea da pressão arterial, que promove uma queda na perfusão sanguínea nas células justaglomerulares, localizadas nos rins. Esta queda de perfusão é traduzida como um sinal ativador destas células, que passam, então, a liberar a primeira enzima na cadeia do sistema SRAA, a renina, produzida e armazenada em grânulos nas próprias células justaglomerulares. Vale lembrar que a produção de renina também já foi detectada em tecidos não pertencentes ao sistema renal, como cérebro, tecido adiposo e coração (Atlas, 2007).

A renina liberada atua na conversão de um peptídeo considerado inerte, denominado angiotensinogênio (produzido e liberado pelo fígado), na angiotensina I (Atlas, 2007), que não possui uma ação efetiva sobre o controle da pressão arterial. Posteriormente a angiotensina I é convertida pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (liberada pelos endotélios renal e pulmonar), na sua forma ativa no controle da PA, a angiotensina II (Ferrario, 2006) (figura 1).

A angiotensina II (ANG II) atua de várias maneiras para a modificação dos parâmetros circulatórios. Ela pode agir diretamente no SNC, por um aumento da atividade simpática, ou provocar seus efeitos agindo

periféricamente, provocando vasoconstrição de arteríolas renais e sistêmicas. Seus efeitos ainda são realizados pelo estímulo à ingestão de líquido, por indução da sede, promovendo um acréscimo no volume de líquido extracelular e conseqüente elevação na PA (Harrison-Bernard, 2009).

A ANGII promove, ainda, liberação do hormônio antidiurético ADH pelo lobo posterior da glândula pituitária, e a liberação da última enzima na cadeia do sistema SRAA, a aldosterona, pelo córtex da medula adrenal (Harrison-Bernard, 2009).

O ADH liberado atua na elevação da PA aumentando a absorção de água pelos rins, diminuindo o volume urinário e aumentando o volume de líquido extracelular, além de possuir uma ação vasoconstritora muito conhecida por ser desencadeada nos casos de hemorragias e desidratação (Johnston, 1985).

A aldosterona, por sua vez, estimula a absorção de sódio e água pelos túbulos proximais, acréscimo na excreção de potássio, reduzindo sensivelmente o volume de urina produzido buscando um aumento do volume extracelular (Yoshimoto e Hirata, 2007).

Desta forma, o resultado final do processo é um aumento no volume do líquido extracelular, diminuição do calibre dos vasos e uma considerável queda na eliminação de líquido e sódio, promovendo uma elevação compensatória da pressão sanguínea até que sejam atingidos os níveis normais.

Assim, podemos ter uma visão geral do papel hemodinâmico e hormonal do sistema renal no ajuste da pressão arterial.

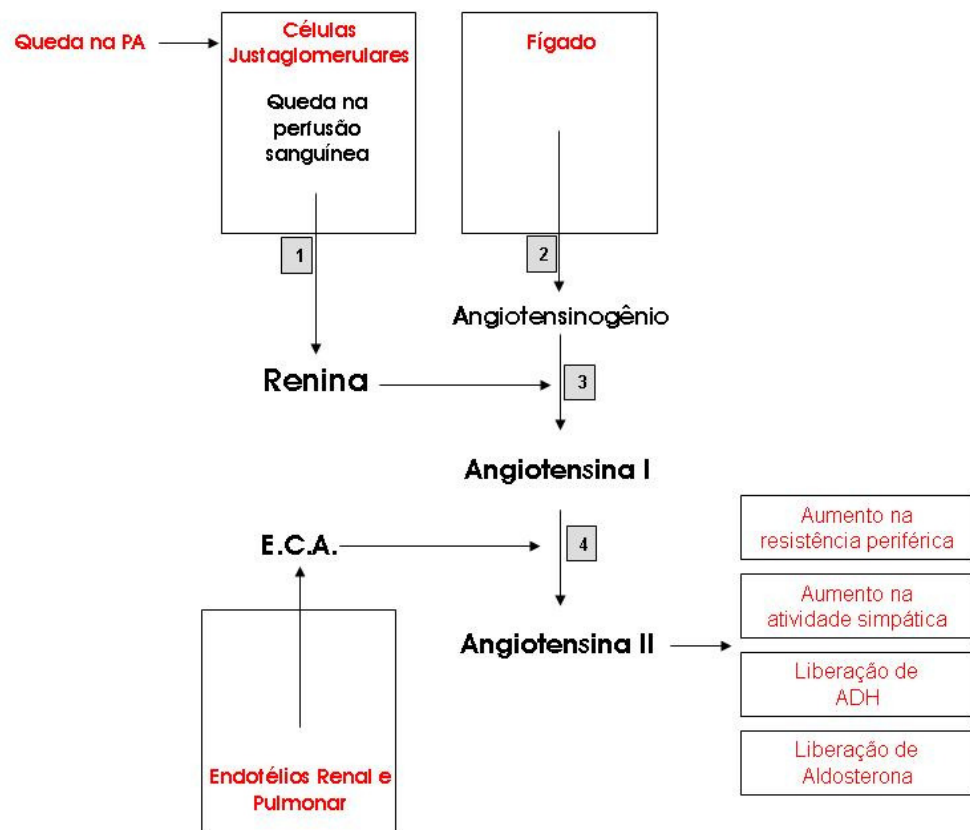


Figura 1: Esquema ilustrando a cascata de liberação da angiotensina II e seu modo de ação no mecanismo de elevação da PA: uma queda na perfusão sanguínea nas células justaglomerulares promove a liberação da renina; a renina atua então na clivagem do angiotensinogênio produzido pelo fígado na enzima angiotensina I; a enzima conversora de angiotensina (ECA) transforma então a angiotensina I em angiotensina II.

1.2- O controle da pressão arterial pelo sistema nervoso central

O sistema nervoso central (SNC) atua no controle da pressão arterial basicamente pela modulação das funções dos sistemas simpático e parassimpático, buscando manter os parâmetros fisiológicos em seus níveis basais.

O controle da PA exercido pelo SNC tem a capacidade de atuar instantaneamente em seus efetores, promovendo mudanças rápidas nos parâmetros cardiovasculares de acordo com a necessidade momentânea. Por

este motivo, os seus efeitos são classicamente conhecidos por terem uma atuação de curto período (Joyner, Charkoudian *et al.*, 2008).

No caso de aumento na pressão arterial, receptores sensíveis à pressão (barorreceptores) e quimioceptores, precisamente localizados no arco aórtico e seio carotídeo são ativados, enviando sinais a um importante núcleo bulbar denominado núcleo do trato solitário (NTS) que retransmite estes sinais a outros núcleos do bulbo, como o bulbo ventrolateral (BVL), além de centros localizados em outros locais do SNC. As duas regiões aqui citadas têm funções muito importantes no controle da PA realizado pelo sistema nervoso central, como será abordado a seguir.

O NTS está localizado na porção dorsal do bulbo, adjacente ao quarto ventrículo, desde a extremidade caudal do núcleo motor facial até a medula espinal.

Ele é conhecido por atuar em diversos mecanismos de controle como o sistema gustativo, no controle da frequência respiratória e aumento da sede. No caso da PA, o NTS possui um papel chave, atuando como principal centro de integração de sinais cardiovasculares oriundos de diversas partes da periferia, redirecionando-os a outras regiões do sistema nervoso central (Lawrence e Jarrott, 1996; Zanutto, Valentinuzzi *et al.*, 2010).

Além de receber informações periféricas dos baro e quimiorreceptores, este núcleo é tido como a única estrutura capaz de receber informações de regiões superiores do SNC, como o hipotálamo, direcionando-os aos centros responsáveis pelo controle das variáveis cardiovasculares, assim como a outros núcleos mesencefálicos (Zanutto, Valentinuzzi *et al.*, 2010).

A integração e redirecionamento de sinais a outros núcleos importantes do sistema nervoso central realizada pelo NTS, é que torna possível os rápidos ajustes dos parâmetros cardiovasculares às necessidades momentâneas citados anteriormente (Reis, Granata *et al.*, 1984; Van Giersbergen, Palkovits *et al.*, 1992).

No NTS podem ser encontrados mais de 21 diferentes tipos de neurotransmissores, como o glutamato, catecolaminas, neuropeptídeo Y, angiotensina, entre outros, os quais interagem entre si, (Fior, Yang *et al.*, 1994; Yang, Fior, Hedlund, Agnati *et al.*, 1994; Yang, Fior, Hedlund, Narvaez *et al.*,

1994; Fior e Fuxe, 1995; Fior-Chadi e Fuxe, 1998) demonstrando a complexidade das ações por ele mediadas.

Um aumento na PA estimula o NTS pela liberação, a partir das terminações dos barorreceptores, do neurotransmissor (predominantemente excitatório) glutamato. Então, o NTS passa a estimular a porção caudal do BVL que, por meio de um aumento na liberação do neurotransmissor (predominantemente inibitório) GABA, diminui a função tônica da porção rostral do BVL sobre o sistema nervoso simpático. O resultado final desta inibição do simpático é uma redução da pressão arterial pela diminuição do tônus vascular (menor resistência periférica), além de uma redução da frequência cardíaca e da força de contração do músculo cardíaco.

Lesões do NTS em ratos podem causar hipertensão fulminante, como demonstrado por Ferrario e colaboradores em 1981 confirmando seu papel no controle pressórico. Em outras espécies lesões no mesmo núcleo causaram uma forma mais branda de hipertensão (Nathan e Reis, 1977; Laubie e Schmitt, 1979).

Pelas características citadas acima e pelo recebimento e envio de inúmeras projeções a diversas regiões do SNC como, por exemplo, o hipotálamo, é que podemos classificar o NTS como principal integrador no controle cardiovascular, agindo na resistência periférica e débito cardíaco, através da mobilização de núcleos de controle simpático e parassimpático (Guyenet, Koshiya *et al.*, 1996).

Uma outra região do SNC, também conhecida pela sua importância na regulação da PA, é a região do hipotálamo, onde se encontra, entre outros núcleos relacionados com o controle cardiovascular, o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN).

O PVN se localiza bilateralmente ao lado do terceiro ventrículo e é tido como o maior dos integradores de sinais existentes na região hipotalâmica, participando ativamente, além do controle da PA, do controle da taxa metabólica, ingestão alimentar, termorregulação e resposta ao estresse. A sua estimulação pode causar tanto o efeito pressor quanto depressor, sendo o efeito diferente de acordo com o órgão alvo (Schlenker, 2005; Zanutto, Valentinuzzi *et al.*, 2010).

Por enviar e receber projeções do NTS, além de modular diretamente o sistema nervoso autônomo por meio de projeções enviadas ao BVL e neurônios pré-ganglionares simpáticos da medula espinal (Onai, Saji *et al.*, 1987; Onai, Takayama *et al.*, 1987; Hardy, 2001), o PVN tem sido descrito como um importante núcleo regulador dos níveis pressóricos (Swanson e Sawchenko, 1980; Blessing, Jaeger *et al.*, 1982); (Kenney, Weiss e Haywood, 2003; Kenney, Weiss, Mendes *et al.*, 2003).

Ainda, o núcleo paraventricular é o maior produtor de hormônio antidiurético, também chamado de vasopressina, participando ativamente dos mecanismos de elevação da PA, conforme os mecanismos discutidos anteriormente (Swaab, Nijveldt *et al.*, 1975).

Desta forma ficam ilustrados os dois principais mecanismos de controle da PA: o renal e o neural.

Devido à importância dos níveis adequados na perfusão sanguínea, a complexidade existente na intercomunicação entre estes dois mecanismos e seus vários componentes (além das interferências externas que podem alterar a regulação), fica claro que disfunções nestas vias de controle podem ser muito danosas ao organismo.

Neste contexto, a hipertensão arterial é um dos mais importantes problemas gerados por disfunções na regulação da PA e suas causas e conseqüências serão melhor abordados nos próximos tópicos.

1.3 A Hipertensão

Distúrbios nos complexos mecanismos de regulação da pressão vistos anteriormente podem levar ao distúrbio conhecido como *hipertensão arterial* (Zanutto, Valentinuzzi *et al.*, 2010), que é definido como uma elevação crônica na pressão arterial média, verificada após várias medições obtidas em diferentes períodos ao longo do dia.

Segundo a “V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial” divulgada na Revista Brasileira de Hipertensão Arterial (v.9, n.4, p. e35. 2006), um indivíduo

é considerado hipertenso quando apresenta, após varias medições ao longo do dia, uma pressão sistólica acima de 140 mmHg e uma pressão diastólica acima de 90 mmHg. Ainda, segundo a mesma publicação, cerca de 30% dos óbitos no Brasil no ano de 2003 foram decorrentes de doenças cardiovasculares, sendo que este número sobe para 37% quando são excluídas as mortes relacionadas à violência e causas mal definidas. Se considerarmos somente as mortes por acidente vascular cerebral, cerca de 40% são relacionadas à hipertensão.

De acordo com os dados contidos no primeiro volume da “Cartilha do Hipertenso”, lançada pela Sociedade Brasileira de Hipertensão em 2001, uma em cada cinco pessoas nos dias de hoje é considerada hipertensa, sendo que este número aumenta para uma em cada duas pessoas no caso dos idosos. Waki e colaboradores (2009) chegam a afirmar que a hipertensão afeta uma em cada três pessoas nos dias atuais.

Com base nestas informações, podemos ter uma idéia clara da seriedade dos problemas causados pela hipertensão na sociedade nos dias de hoje, podendo ser considerada como um problema de saúde pública. Por este motivo, os estudos enfocando as causas, o controle e a diminuição dos seus efeitos são fundamentais.

Muitos podem ser os motivos desencadeadores desta patologia, como, por exemplo, pré-disposição genética, o sedentarismo, o estresse, o fumo, a má alimentação, entre outros.

A hipertensão pode ser caracterizada como secundária ou neurogênica (também chamada de hipertensão essencial).

A hipertensão secundária é a presença de uma condição específica causadora do quadro hipertensivo. A presença desta condição pode causar diretamente a hipertensão, ou servir como um fator agravante em um indivíduo que já apresente um quadro de hipertensão primária. A disfunção renal crônica é geralmente citada como a causa mais comum da hipertensão secundária (Taler, 2008).

A hipertensão neurogênica ou essencial pode ser causada por uma anomalia no sistema nervoso autônomo, provavelmente causado por algum problema no sistema de ramos aferentes (barorreceptores, quimioceptores) ou na circuitaria central (Guyenet, 2006). Reja e colaboradores, em seus dois

trabalhos publicados em 2002 formulam a hipótese do aumento da atividade na região rostral do BVL em decorrência de um aumento na expressão gênica catecolaminérgica, nesta área de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), amplamente utilizados como modelo de hipertensão humana (Reis, 1981).

Waki e colaboradores em seu trabalho de 2009 afirmam que hipertensão neurogênica pode ser causada e mantida por uma hiperatividade do sistema nervoso simpático, tanto em humanos, quanto em modelos animais. Porém suas causas ainda não puderam ser completamente elucidadas.

O mesmo trabalho mostra, ainda, que 55% dos pacientes hipertensos, que fazem uso da vasta medicação disponível, não apresentam melhoras nos altos níveis de pressão arterial.

Sabendo que a hipertensão conta com vários componentes genéticos e, sabendo ainda da grande variedade de drogas disponíveis, agindo em diferentes vias e com diferentes modos de ação, podemos afirmar que existem mecanismos desencadeadores (ou uma combinação deles) que permanecem obscuros (Waki, Gouraud *et al.*, 2009). Este fato confere à doença a característica de ser multifatorial, o que dificulta muito o desenvolvimento de uma terapia definitiva para a sua cura.

Apesar das evidências que mostram alterações nos perfis de expressão de alguns genes em indivíduos hipertensos em relação aos sadios (Delva, Lechi *et al.*, 2002; Chon, Gaillard *et al.*, 2004; Ferrari, Reis *et al.*, 2009), genes definitivamente pró-hipertensivos ainda não foram estabelecidos. Porém, alguns candidatos têm surgido em diversos estudos importantes, servindo como subsídio a novas abordagens que visam futuras terapias e desenvolvimento de novas drogas.

Dois destes genes relacionados à hipertensão essencial ou neurogênica, um deles, o gene codificador da “proteína associada ao receptor AT1 de angiotensina II” (ATRAP ou AGTRAP) e o outro denominado gene SAH, apresentaram características interessantes em estudos preliminares, tanto em trabalhos da literatura, quanto em estudos realizados pelo nosso grupo, e são alvo deste trabalho, como discutido a seguir.

1.4- O gene codificador da proteína ATRAP

Como visto anteriormente o sistema renina-angiotensina-aldosterona faz parte do mecanismo hormonal de controle da pressão arterial realizado pelos rins, sendo um dos mais poderosos sistemas de regulação da PA (Harrison-Bernard, 2009).

Neste sistema, a angiotensina II (ANGII) é um dos principais componentes.

Este peptídeo é conhecido por suas diversas ações pressoras, tanto em nível central como periférico (Reja, Goodchild *et al.*, 2006), promovendo vasoconstrição, aumento na sensibilidade de barorreceptores (Atlas, 2007), elevação da ingestão, reabsorção e retenção de sódio e água (Atlas, 2007), assim como mostrado no esquema da figura 1.

Desta forma, a ANGII tem um papel chave no controle circulatório, possibilitando que eficientes tratamentos anti-hipertensivos tenham seus mecanismos de ação baseados no SRAA. Estes tratamentos procuram controlar a PA pela administração de bloqueadores de receptores angiotensinérgicos, como é o caso das drogas valsartan (Mochizuki, Dahlof *et al.*, 2007) e candesartan (Rizzoni, Porteri *et al.*, 2005), ou pelo bloqueio da enzima conversora de angiotensina (ECA), responsável pela transformação de ANG I em ANG II, como é o caso do medicamento enalapril (Rizzoni, Porteri *et al.*, 2005).

Diversos trabalhos afirmam que um desbalanço na produção e/ou liberação da ANG II circulante podem ser uma das causas da hipertensão essencial (Julius, 1988; Romero e Reckelhoff, 1999).

Experimentos comprovaram a ação central da Ang II no aumento da PA, por meio da administração de microinjeções de ANGII em varias áreas do sistema nervoso de ratos, como NTS (Casto e Phillips, 1984; Eshima, Hirooka *et al.*, 2000) e área postrema (Lowe, Mclean *et al.*, 1993). Da mesma forma, o bloqueio dos receptores angiotensinérgicos no BVL por antagonistas específicos provoca queda significativa da pressão arterial (Ito, Komatsu *et al.*, 2002), fato que comprova efetivamente a ação deste peptídeo nos mecanismos centrais de regulação cardiovascular.

Experimentos anteriores realizados por nosso grupo, por meio da técnica de microarranjos de DNA, verificaram diferenças nos níveis de

expressão em um dos genes (NM_001007654.1) que traduz uma proteína denominada ATRAP (do inglês angiotensin II receptor AT1 associated protein) em ratos hipertensos em comparação à expressão em ratos normotensos, o que reforça a relação do receptor em mecanismos centrais que poderiam estar relacionados com a gênese da hipertensão.

As ações da ANGII são mediadas principalmente por meio de dois receptores: o AT1 e o AT2.

Apesar de ser encontrado em áreas determinadas em indivíduos adultos (Song, Zhuo *et al.*, 1991), o receptor AT2 é predominante em animais jovens, e sua densidade decresce rapidamente após o nascimento (Nahmias, Cazaubon *et al.*, 1995).

Seus mecanismos de ação intracelular, diferente do que ocorre com os receptores AT1, não utilizam exclusivamente em suas vias de sinalização proteínas G, sendo que tais vias de sinalização variam de acordo com o tipo de célula estudada (Okuyama, Sakagawa *et al.*, 1999).

Apesar de não possuir funções estabelecidas, suas características e seus mecanismos de sinalização intracelular, além do fato de sua predominância em fetos e indivíduos jovens (com o decréscimo durante o desenvolvimento), sugerem que o receptor AT2 deve ter funções importantes relacionadas com o desenvolvimento e maturação do SNC nos estágios iniciais de vida, assim como na mediação da ação de fatores de crescimento celular (Millan, Jacobowitz *et al.*, 1991).

Já no indivíduo adulto, o receptor AT1 é mais abundante, sendo que a maioria das ações fisiológicas da ANGII é por ele mediada (Millan, Jacobowitz *et al.*, 1991). Além disso, ele é tido como o maior mediador das ações cardiovasculares desencadeadas pela ANGII (Cui, Nakagami *et al.*, 2000). Sua presença já foi detectada no coração, vasos sanguíneos, fígado, rins, útero glândula adrenal e cérebro (Pan, 2004).

O AT1 pertence à superfamília dos receptores acoplados à proteína G (GPR). Os receptores desta classe contêm sete domínios transmembrânicos e participam de inúmeros processos fisiológicos e patológicos, sendo, por este motivo, alvos de drogas utilizadas em várias terapias (Tikhonova e Costanzi, 2009).

Os GPR e, conseqüentemente, os AT1, possuem uma região específica localizada na terceira alça transmembrânica que é responsável pelo acoplamento do receptor ao complexo de proteínas G (Daviet, Lehtonen *et al.*, 1999), além de uma região N-terminal, voltada para o espaço extracelular, e uma região C-terminal, ou carboxiterminal, voltada para a o citoplasma (Tikhonova e Costanzi, 2009).

Especificamente, a região C-terminal dos receptores AT1 tem demonstrado ser importante nas funções de sinalização, dessensibilização e internalização dos mesmos. Assim, esta região pode ser considerada moduladora das ações da Ang II mediadas por estes receptores (Hunyady, Bor *et al.*, 1994).

Corroborando com a teoria de que a função moduladora dos AT1 deve se localizar na região C-terminal, Cui e colaboradores (2000) afirmam em seu estudo que é justamente nesta região que ocorre a interação destes receptores com a proteína ATRAP.

Ainda, o mesmo autor mostra que, provavelmente, essa interação pode ser um dos aspectos distintivos entre o papel dos receptores angiotensinérgicos AT1 e AT2, uma vez que não existe nenhuma interação da ATRAP com a mesma região dos receptores AT2 (Cui, Nakagami *et al.*, 2000).

Apesar das descobertas importantes sobre o funcionamento da ATRAP, Cui e colaboradores (2000) citam que a verdadeira função da proteína ainda não foi completamente desvendada.

De acordo com as afirmações acima, o presente trabalho tem por objetivo demonstrar a expressão da proteína ATRAP em regiões importantes do SNC ligadas ao controle da PA em duas linhagens de ratos, correlacionando esta expressão com a gênese da hipertensão verificada em uma delas.

1.5- O gene SAH

Em um trabalho realizado pelos pesquisadores Iwai e Inagami (1991), cujo foco principal era provar a teoria de que certas disfunções renais poderiam estar entre as maiores causas da hipertensão, foram encontradas diferenças na expressão de vários genes provenientes de rins de ratos hipertensos (SHR) em relação aos normotensos Wistar Kyoto (WKY).

Em especial, três destes genes (S3, S2 e SA), foram considerados importantes para os mecanismos renais relacionados à hipertensão.

Dentre os três genes, o gene SA (também escrito SAH, modo adotado neste trabalho), apresentou uma expressão mais proeminente do que os demais, sendo esta cerca de dez vezes maior nos rins de ratos SHR do que nos WKY, ambos com 16 semanas de vida (Iwai e Inagami, 1991).

A expressão do mesmo gene ainda apresentou um grande acréscimo em animais SHR de 28 semanas quando comparados aos mesmos animais com 16 semanas, sugerindo, além da diferença no perfil de expressão entre as duas linhagens, uma modulação na sua transcrição ao longo do desenvolvimento destes animais (Iwai e Inagami, 1991).

As funções dos produtos do gene SAH ainda não foram totalmente descobertas (Iwai e Inagami, 1991; Iwai, Inagami *et al.*, 1994). Porém, algumas suposições têm sido feitas, sobre o gene e suas relações com a hipertensão ligada à obesidade (Telgmann, Brand *et al.*, 2007; Jin, Kuznetsova *et al.*, 2009), altos níveis plasmáticos de colesterol (Haketa, Soma *et al.*, 2004) e neuropatias (Narita, Saito *et al.*, 2002). Sabe-se também que ele se localiza no cromossomo 1 do genoma dos ratos (Lindpaintner, Hilbert *et al.*, 1993).

No caso de humanos, até o momento, só existe um estudo demonstrando que o gene SAH é expresso nos rins de pacientes sem histórico de hipertensão, porém em níveis muito mais baixos em relação aos rins de ratos SHR e WKY (Samani, Whitmore *et al.*, 1994), sendo que estudos comparando os níveis de mRNA entre tecidos provenientes de humanos hipertensos e sadios são necessários para fornecer conclusões mais precisas.

Vassey e Kelley (1997) levantam pela primeira vez a interessante hipótese de que o produto do gene SAH pode estar ligado a mecanismos de desintoxicação responsáveis pela transformação de moléculas xenobióticas.

Os xenobióticos são moléculas de origem externa, estranhas ao organismo, que adentram, predominantemente, pela via digestiva. O metabolismo destas moléculas é muito difícil, somente sendo possível por meio de reações de biotransformação visando uma excreção facilitada do produto formado.

Os pesquisadores formulam a hipótese após extrair, do fígado bovino, dois fragmentos peptídicos de aproximadamente 10 e 12kDa cada, originados

de uma enzima mitocondrial de 62kDa responsável por catalisar reações de conjugação de xenobióticos (particularmente, o ácido carboxílico) com aminoácidos.

Após o confronto das seqüências no GeneBank, os dois fragmentos mostram-se semelhantes à seqüência do produto protéico do gene SAH, sendo que a seqüência do fragmento de 12kDa apresentou alta semelhança (73%) tanto com o produto humano como de rato. Este resultado sugeriu uma possível relação entre o metabolismo de ácido carboxílico e a regulação da pressão arterial.

Mesmo não sendo conclusivos, os resultados de Vassey e Kelley (1997) fizeram com que vários outros trabalhos fossem realizados associando enzimas mitocondriais de metabolização de xenobióticos a problemas cardiovasculares.

Existem vários relatos de detecção de metabólitos destas enzimas em tecidos cardiovasculares (Roman, 2002; Gottlieb, 2003; Spiecker e Liao, 2005) e, visto que algumas das moléculas metabolizadas, como, por exemplo, o ácido aracdônico, têm uma importância direta na regulação da pressão arterial, fica claro que uma alteração na dinâmica destas enzimas pode contribuir para a gênese da hipertensão (Elbekai e El-Kadi, 2006), corroborando com a hipótese inicial.

Além disso, estas relações reafirmam a complexidade dos sistemas envolvidos na regulação dos parâmetros vasculares e a diversidade de sistemas a eles associados, reforçando a dificuldade encontrada tanto na identificação dos fatores envolvidos na gênese da hipertensão, quanto no desenvolvimento de terapias.

Outro estudo constatou o efeito do genótipo SAH na PA de ratos da geração F2, oriundos de cruzamentos entre SHR e WKY, reforçando a relação do gene com o desenvolvimento da hipertensão nos SHR, uma vez que ficou demonstrado que ratos WKY portadores de dois alelos do gene SAH oriundos de pais SHR tinham uma PA significativamente maior do que ratos portadores de dois alelos oriundos de WKY (Iwai e Inagami, 1992).

Iwai e colaboradores realizaram ainda outro trabalho onde uma nova linhagem de WKY, identificada pelo código WKY.SHR-D1Mit3/Rat57, foi criada com a substituição da região SAH do seu cromossomo 1 pela correspondente

região proveniente de hipertensos SHR. Como resultado, foi verificada uma PA significativamente mais alta na nova linhagem em comparação aos seus progenitores, confirmando assim a hipótese da relação do gene SAH com a hipertensão (Iwai, Tsujita *et al.*, 1998).

Vários estudos apontam uma relação da expressão do gene SAH nos rins com uma elevação da PA, sendo possível observar uma clara concentração destes trabalhos no sistema renal, baseados no conceito estabelecido de que disfunções renais geneticamente determinadas são fontes importantes de problemas cardiovasculares.

Com exceção de poucos estudos (Iwai e Inagami, 1992; Kaiser, Lodwick *et al.*, 1994; Mishima, Shigematsu *et al.*, 2000) que apenas demonstram a expressão do gene SAH em algumas áreas do sistema nervoso central, não existem trabalhos de mapeamento enfocando quantitativamente o estudo da expressão do gene em áreas relacionadas ao controle da PA em linhagens hipertensas e normotensas. Tais estudos são de vital importância, principalmente no bulbo, onde, como visto anteriormente, encontram-se importantes centros integradores de sinais responsáveis pelo controle da pressão arterial, como é o caso do NTS.

Além disso, diferenças de expressão do gene SAH no bulbo de ratos SHR em relação ao de WKY já foram detectadas em experimentos de microarranjos de DNA realizados pelo nosso grupo (Ferrari, Reis *et al.*, 2009), demonstrando a expressão e confirmando a importância do gene no sistema nervoso central. Foi observada uma alteração na expressão do gene SAH em cultura de células do bulbo de ratos SHR quando comparados aos normotensos WKY, o que sugere o envolvimento deste gene no desenvolvimento ou manutenção do quadro hipertensivo nos ratos SHR.

Desta forma, este estudo tem por objetivo demonstrar quantitativamente a expressão do gene SAH em áreas do SNC envolvidas com o controle cardiovascular.

Conclusões:

- Foi constatada a expressão do gene codificador da proteína ATRAP e do gene SAH no bulbo ventrolateral, bulbo dorsal e no hipotálamo (que contém o núcleo paraventricular do hipotálamo) tanto em ratos hipertensos SHR, como em ratos Wistar Kyoto, normotensos. Estas áreas são conhecidas por relacionar-se ao controle da pressão arterial realizado pelo sistema nervoso central.
- A expressão do gene codificador da proteína ATRAP e do gene SAH no sistema nervoso central, ocorrem de modo região e idade-dependente, sugerindo que os produtos de cada um deles devem desempenhar papéis diferentes no controle da pressão arterial de acordo com a região, a fase do desenvolvimento dos animais e da gênese hipertensiva verificada nos SHR.
- Ainda não foi possível estabelecer uma relação da expressão do gene SAH nas regiões estudadas com o fenótipo hipertenso verificado na cepa SHR, principalmente no que diz respeito às regiões bulbares aqui abordadas.
- O tratamento de ratos hipertensos SHR com a droga Olmesartan, em dose hipotensora, não foi capaz de alterar a transcrição de nenhum dos dois genes estudados na comparação entre os grupos tratado e controle. Porém, este tratamento influenciou de maneira diferente a transcrição do gene codificador da proteína ATRAP nas regiões estudadas, sugerindo efeitos diferentes da droga de acordo com o núcleo estudado.

Bibliografia:

Atlas, S. A. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. J Manag Care Pharm, v.13, n.8 Suppl B, Oct, p.9-20. 2007.

Blessing, W. W., C. B. Jaeger, *et al.* Hypothalamic projections of medullary catecholamine neurons in the rabbit: a combined catecholamine fluorescence and HRP transport study. Brain Res Bull, v.9, n.1-6, Jul-Dec, p.279-86. 1982.

Brousil, J. A. e J. M. Burke. Olmesartan medoxomil: an angiotensin II-receptor blocker. Clin Ther, v.25, n.4, Apr, p.1041-55. 2003.

Carey, R. M. e H. M. Siragy. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. Endocr Rev, v.24, n.3, Jun, p.261-71. 2003.

Casto, R. e M. I. Phillips. Mechanism of pressor effects by angiotensin in the nucleus tractus solitarius of rats. Am J Physiol, v.247, n.3 Pt 2, Sep, p.R575-81. 1984.

Chon, H., C. A. Gaillard, *et al.* Broadly altered gene expression in blood leukocytes in essential hypertension is absent during treatment. Hypertension, v.43, n.5, May, p.947-51. 2004.

Correa, F. M., M. Viswanathan, *et al.* Kidney angiotensin II receptors and converting enzyme in neonatal and adult Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. Peptides, v.16, n.1, p.19-24. 1995.

Cowley, A. W., Jr. Long-term control of arterial blood pressure. Physiol Rev, v.72, n.1, Jan, p.231-300. 1992.

Cravo, S. L., R. R. Campos, *et al.* Role of the medulla oblongata in normal and high arterial blood pressure regulation: the contribution of Escola Paulista de Medicina - UNIFESP. An Acad Bras Cienc, v.81, n.3, Sep, p.589-603. 2009.

Cravo, S. L., S. F. Morrison, *et al.* Differentiation of two cardiovascular regions within caudal ventrolateral medulla. Am J Physiol, v.261, n.4 Pt 2, Oct, p.R985-94. 1991.

Cui, T., H. Nakagami, *et al.* ATRAP, novel AT1 receptor associated protein, enhances internalization of AT1 receptor and inhibits vascular smooth muscle cell growth. Biochem Biophys Res Commun, v.279, n.3, Dec 29, p.938-41. 2000.

Daviet, L., J. Y. Lehtonen, *et al.* Cloning and characterization of ATRAP, a novel protein that interacts with the angiotensin II type 1 receptor. J Biol Chem, v.274, n.24, Jun 11, p.17058-62. 1999.

- Delva, P., A. Lechi, *et al.* Collagen I and III mRNA gene expression and cell growth potential of skin fibroblasts in patients with essential hypertension. J Hypertens, v.20, n.7, Jul, p.1393-9. 2002.
- Doggrell, S. A. e L. Brown. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. Cardiovasc Res, v.39, n.1, Jul, p.89-105. 1998.
- Elbekai, R. H. e A. O. El-Kadi. Cytochrome P450 enzymes: central players in cardiovascular health and disease. Pharmacol Ther, v.112, n.2, Nov, p.564-87. 2006.
- Eshima, K., Y. Hirooka, *et al.* Angiotensin in the nucleus tractus solitarii contributes to neurogenic hypertension caused by chronic nitric oxide synthase inhibition. Hypertension, v.36, n.2, Aug, p.259-63. 2000.
- Fernandes-Santos, C., L. De Souza Mendonca, *et al.* Favorable cardiac and aortic remodeling in olmesartan-treated spontaneously hypertensive rats. Heart Vessels, v.24, n.3, May, p.219-27. 2009.
- Ferrari, M. F. e D. R. Fior-Chadi. Differential expression of nNOS mRNA and protein in the nucleus tractus solitarii of young and aged Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. J Hypertens, v.23, n.9, Sep, p.1683-90. 2005.
- Ferrari, M. F. e D. R. Fior-Chadi. Chronic nicotine administration. Analysis of the development of hypertension and glutamatergic neurotransmission. Brain Res Bull, v.72, n.4-6, May 30, p.215-24. 2007.
- Ferrari, M. F., M. K. Raizada, *et al.* Nicotine modulates the renin-angiotensin system of cultured neurons and glial cells from cardiovascular brain areas of Wistar Kyoto and spontaneously hypertensive rats. J Mol Neurosci, v.33, n.3, p.284-93. 2007.
- Ferrari, M. F., Raizada, *et al.* Differential regulation of the renin-angiotensin system by nicotine in WKY and SHR glia. J Mol Neurosci, v.35, n.2, Jun, p.151-60. 2008.
- Ferrari, M. F., E. M. Reis, *et al.* Gene expression profiling of cultured cells from brainstem of newborn spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats. Cell Mol Neurobiol, v.29, n.3, May, p.287-308. 2009.
- Ferrario, C. M. Role of angiotensin II in cardiovascular disease therapeutic implications of more than a century of research. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, v.7, n.1, Mar, p.3-14. 2006.
- Fior-Chadi, D. R. e K. Fuxe. Quantitative receptor radioautography in the study of receptor-receptor interactions in the nucleus tractus solitarii. Braz J Med Biol Res, v.31, n.2, Feb, p.225-30. 1998.
- Fior, D. R. e K. Fuxe. Bradykinin modulation of alpha 2-adrenoceptors in the nucleus tractus solitarii of the rat. An in vitro autoradiographical study. Neuropharmacology, v.34, n.1, Jan, p.81-8. 1995.

Fior, D. R., S. N. Yang, *et al.* Evidence for an antagonistic angiotensin II/alpha 2-adrenoceptor interaction in the nucleus tractus solitarii. Eur J Pharmacol, v.262, n.3, Sep 12, p.271-82. 1994.

Gottlieb, R. A. Cytochrome P450: major player in reperfusion injury. Arch Biochem Biophys, v.420, n.2, Dec 15, p.262-7. 2003.

Guyenet, P. G. The sympathetic control of blood pressure. Nat Rev Neurosci, v.7, n.5, May, p.335-46. 2006.

Guyenet, P. G., N. Koshiya, *et al.* Role of medulla oblongata in generation of sympathetic and vagal outflows. Prog Brain Res, v.107, p.127-44. 1996.

Guyton, A. C. Roles of the kidneys and fluid volumes in arterial pressure regulation and hypertension. Chin J Physiol, v.32, n.2, p.49-57. 1989.

Haketa, A., M. Soma, *et al.* Two medium-chain acyl-coenzyme A synthetase genes, SAH and MACS1, are associated with plasma high-density lipoprotein cholesterol levels, but they are not associated with essential hypertension. J Hypertens, v.22, n.10, Oct, p.1903-7. 2004.

Hardy, S. G. Hypothalamic projections to cardiovascular centers of the medulla. Brain Res, v.894, n.2, Mar 16, p.233-40. 2001.

Harrison-Bernard, L. M. The renal renin-angiotensin system. Adv Physiol Educ, v.33, n.4, Dec, p.270-4. 2009.

Hunt, R. A., G. M. Ciuffo, *et al.* Quantification and localisation of angiotensin II receptors and angiotensin converting enzyme in the developing rat heart. Cardiovasc Res, v.29, n.6, Jun, p.834-40. 1995.

Hunyady, L., M. Bor, *et al.* Identification of a cytoplasmic Ser-Thr-Leu motif that determines agonist-induced internalization of the AT1 angiotensin receptor. J Biol Chem, v.269, n.50, Dec 16, p.31378-82. 1994.

Ishinaga, Y., T. Nabika, *et al.* Re-evaluation of the SA gene in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.24, n.1, Jan, p.18-22. 1997.

Ito, S., K. Komatsu, *et al.* Ventrolateral medulla AT1 receptors support blood pressure in hypertensive rats. Hypertension, v.40, n.4, Oct, p.552-9. 2002.

Iwai, N. e T. Inagami. Isolation of preferentially expressed genes in the kidneys of hypertensive rats. Hypertension, v.17, n.2, Feb, p.161-9. 1991.

Iwai, N. e T. Inagami. Identification of a candidate gene responsible for the high blood pressure of spontaneously hypertensive rats. J Hypertens, v.10, n.10, Oct, p.1155-7. 1992.

- Iwai, N., T. Inagami, *et al.* Molecular genetics of the SA gene. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.21, n.11, Nov, p.913-4. 1994.
- Iwai, N., T. Katsuya, *et al.* Association between SAH, an acyl-CoA synthetase gene, and hypertriglyceridemia, obesity, and hypertension. Circulation, v.105, n.1, Jan 1, p.41-7. 2002.
- Iwai, N., Y. Tsujita, *et al.* Isolation of a chromosome 1 region that contributes to high blood pressure and salt sensitivity. Hypertension, v.32, n.4, Oct, p.636-8. 1998.
- Jin, Y., T. Kuznetsova, *et al.* Left ventricular structure in relation to the human SAH gene in the European Project on Genes in Hypertension. Hypertens Res, v.32, n.2, Feb, p.145-51. 2009.
- Johnston, C. I. Vasopressin in circulatory control and hypertension. J Hypertens, v.3, n.6, Dec, p.557-69. 1985.
- Joyner, M. J., N. Charkoudian, *et al.* A sympathetic view of the sympathetic nervous system and human blood pressure regulation. Exp Physiol, v.93, n.6, Jun, p.715-24. 2008.
- Julius, S. Interaction between renin and the autonomic nervous system in hypertension. Am Heart J, v.116, n.2 Pt 2, Aug, p.611-6. 1988.
- Kaiser, M. A., D. Lodwick, *et al.* The rat SA gene shows genotype-dependent tissue-specific expression. Clin Sci (Lond), v.87, n.1, Jul, p.1-4. 1994.
- Kenney, M. J., M. L. Weiss, *et al.* The paraventricular nucleus: an important component of the central neurocircuitry regulating sympathetic nerve outflow. Acta Physiol Scand, v.177, n.1, Jan, p.7-15. 2003.
- Kenney, M. J., M. L. Weiss, *et al.* Role of paraventricular nucleus in regulation of sympathetic nerve frequency components. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.284, n.5, May, p.H1710-20. 2003.
- Kurtz, T. W. e R. C. Morris, Jr. Biological variability in Wistar-Kyoto rats. Implications for research with the spontaneously hypertensive rat. Hypertension, v.10, n.1, Jul, p.127-31. 1987.
- Laubie, M. e H. Schmitt. Destruction of the nucleus tractus solitarii in the dog: comparison with sinoaortic denervation. Am J Physiol, v.236, n.5, May, p.H736-43. 1979.
- Lawrence, A. J. e B. Jarrott. Neurochemical modulation of cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius. Prog Neurobiol, v.48, n.1, Jan, p.21-53. 1996.

Lee, J. S., W. O. Ward, *et al.* Coordinated changes in xenobiotic metabolizing enzyme gene expression in aging male rats. Toxicol Sci, v.106, n.1, Nov, p.263-83. 2008.

Lenkei, Z., M. Palkovits, *et al.* Distribution of angiotensin type-1 receptor messenger RNA expression in the adult rat brain. Neuroscience, v.82, n.3, Feb, p.827-41. 1998.

Limas, C., B. Westrum, *et al.* The evolution of vascular changes in the spontaneously hypertensive rat. Am J Pathol, v.98, n.2, Feb, p.357-84. 1980.

Lindpaintner, K., P. Hilbert, *et al.* Molecular genetics of the SA-gene: cosegregation with hypertension and mapping to rat chromosome 1. J Hypertens, v.11, n.1, Jan, p.19-23. 1993.

Lowes, V. L., L. E. Mclean, *et al.* Cardiovascular consequences of microinjection of vasopressin and angiotensin II in the area postrema. Am J Physiol, v.265, n.3 Pt 2, Sep, p.R625-31. 1993.

Millan, M. A., D. M. Jacobowitz, *et al.* Differential distribution of AT1 and AT2 angiotensin II receptor subtypes in the rat brain during development. Proc Natl Acad Sci U S A, v.88, n.24, Dec 15, p.11440-4. 1991.

Mishima, A., K. Shigematsu, *et al.* Strain differences in SA gene expression in brain and kidney of normotensive and hypertensive rats. Cell Mol Neurobiol, v.20, n.6, Dec, p.633-52. 2000.

Mochizuki, S., B. Dahlof, *et al.* Valsartan in a Japanese population with hypertension and other cardiovascular disease (Jikei Heart Study): a randomised, open-label, blinded endpoint morbidity-mortality study. Lancet, v.369, n.9571, Apr 28, p.1431-9. 2007.

Nahmias, C., S. M. Cazaubon, *et al.* Angiotensin II AT2 receptors are functionally coupled to protein tyrosine dephosphorylation in N1E-115 neuroblastoma cells. Biochem J, v.306 (Pt 1), Feb 15, p.87-92. 1995.

Narita, I., N. Saito, *et al.* Role of genetic polymorphism in the SA gene on the blood pressure and prognosis of renal function in patients with immunoglobulin A nephropathy. Hypertens Res, v.25, n.6, Nov, p.831-6. 2002.

Nathan, M. A. e D. J. Reis. Chronic labile hypertension produced by lesions of the nucleus tractus solitarii in the cat. Circ Res, v.40, n.1, Jan, p.72-81. 1977.

Navar, L. G. The role of the kidneys in hypertension. J Clin Hypertens (Greenwich), v.7, n.9, Sep, p.542-9. 2005.

Okamoto, K. e K. Aoki. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. Jpn Circ J, v.27, Mar, p.282-93. 1963.

Okuyama, S., T. Sakagawa, *et al.* Role of the angiotensin II type-2 receptor in the mouse central nervous system. Jpn J Pharmacol, v.81, n.3, Nov, p.259-63. 1999.

Onai, T., M. Saji, *et al.* Functional subdivisions of the nucleus tractus solitarii of the rat as determined by circulatory and respiratory responses to electrical stimulation of the nucleus. J Auton Nerv Syst, v.21, n.2-3, Dec, p.195-202. 1987.

Onai, T., K. Takayama, *et al.* Projections to areas of the nucleus tractus solitarii related to circulatory and respiratory responses in cats. J Auton Nerv Syst, v.18, n.2, Feb, p.163-75. 1987.

Pan, H. L. Brain angiotensin II and synaptic transmission. Neuroscientist, v.10, n.5, Oct, p.422-31. 2004.

Raizada, M. K., D. Lu, *et al.* Increased angiotensin II type-1 receptor gene expression in neuronal cultures from spontaneously hypertensive rats. Endocrinology, v.132, n.4, Apr, p.1715-22. 1993.

Reis, D. J. The nucleus tractus solitarius and experimental neurogenic hypertension: evidence for a central neural imbalance hypothesis of hypertensive disease. Adv Biochem Psychopharmacol, v.28, p.409-20. 1981.

Reis, D. J., A. R. Granata, *et al.* Brain stem catecholamine mechanisms in tonic and reflex control of blood pressure. Hypertension, v.6, n.5 Pt 2, Sep-Oct, p.117-15. 1984.

Reja, V., A. K. Goodchild, *et al.* Tyrosine hydroxylase gene expression in ventrolateral medulla oblongata of WKY and SHR: a quantitative real-time polymerase chain reaction study. Auton Neurosci, v.98, n.1-2, Jun 28, p.79-84. 2002.

Reja, V., A. K. Goodchild, *et al.* Upregulation of angiotensin AT1 receptor and intracellular kinase gene expression in hypertensive rats. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.33, n.8, Aug, p.690-5. 2006.

Reja, V., A. K. Goodchild, *et al.* Catecholamine-related gene expression correlates with blood pressures in SHR. Hypertension, v.40, n.3, Sep, p.342-7. 2002.

Rizzoni, D., E. Porteri, *et al.* Effect of treatment with candesartan or enalapril on subcutaneous small artery structure in hypertensive patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. Hypertension, v.45, n.4, Apr, p.659-65. 2005.

Roman, R. J. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. Physiol Rev, v.82, n.1, Jan, p.131-85. 2002.

Romero, J. C. e J. F. Reckelhoff. State-of-the-Art lecture. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. Hypertension, v.34, n.4 Pt 2, Oct, p.943-9. 1999.

Samani, N. J., S. A. Whitmore, *et al.* Chromosomal assignment of the human SA gene to 16p13.11 and demonstration of its expression in the kidney. Biochem Biophys Res Commun, v.199, n.2, Mar 15, p.862-8. 1994.

Schlenker, E. H. Integration in the PVN: another piece of the puzzle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.289, n.3, Sep, p.R653-5. 2005.

Schmieder, R. E., K. F. Hilgers, *et al.* Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. Lancet, v.369, n.9568, Apr 7, p.1208-19. 2007.

Shigenaga, A., K. Tamura, *et al.* Effect of olmesartan on tissue expression balance between angiotensin II receptor and its inhibitory binding molecule. Hypertension, v.52, n.4, Oct, p.672-8. 2008.

Song, K., J. Zhuo, *et al.* Angiotensin II receptor subtypes in rat brain and peripheral tissues. Cardiology, v.79 Suppl 1, p.45-54. 1991.

Spiecker, M. e J. K. Liao. Vascular protective effects of cytochrome p450 epoxygenase-derived eicosanoids. Arch Biochem Biophys, v.433, n.2, Jan 15, p.413-20. 2005.

Swaab, D. F., F. Nijveldt, *et al.* Distribution of oxytocin and vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus. J Endocrinol, v.67, n.3, Dec, p.461-2. 1975.

Swanson, L. W. e P. E. Sawchenko. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. Neuroendocrinology, v.31, n.6, Dec, p.410-7. 1980.

Taler, S. J. Secondary causes of hypertension. Prim Care, v.35, n.3, Sep, p.489-500, vi. 2008.

Telgmann, R., E. Brand, *et al.* SAH gene variants are associated with obesity-related hypertension in Caucasians: the PEGASE Study. J Hypertens, v.25, n.3, Mar, p.557-64. 2007.

Tikhonova, I. G. e S. Costanzi. Unraveling the structure and function of G protein-coupled receptors through NMR spectroscopy. Curr Pharm Des, v.15, n.35, p.4003-16. 2009.

Toal, C. B. e F. H. Leenen. Body fluid volumes during development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. J Hypertens, v.1, n.4, Dec, p.345-50. 1983.

- Tonelli, L., O. Jöhren, *et al.* Gerbil angiotensin II AT1 receptors are highly expressed in the hippocampus and cerebral cortex during postnatal development. Neuroscience, v.95, n.4, p.981-91. 2000.
- Tsutsumi, K. e J. M. Saavedra. Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT1 and AT2) in rat brain. Am J Physiol, v.261, n.1 Pt 2, Jul, p.R209-16. 1991.
- Van Giersbergen, P. L., M. Palkovits, *et al.* Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitarii in cardiovascular regulation. Physiol Rev, v.72, n.3, Jul, p.789-824. 1992.
- Vaneckova, I. Function of the isolated perfused kidney in young and adult spontaneously hypertensive and dahl salt-sensitive rats. Kidney Blood Press Res, v.25, n.5, p.315-21. 2002.
- Vessey, D. A. e M. Kelley. Purification and partial sequencing of the XL-I form of xenobiotic-metabolizing medium chain fatty acid:CoA ligase from bovine liver mitochondria, and its homology with the essential hypertension protein. Biochim Biophys Acta, v.1346, n.3, Jun 23, p.231-6. 1997.
- Viswanathan, M., K. Tsutsumi, *et al.* Changes in expression of angiotensin receptor subtypes in the rat aorta during development. Biochem Biophys Res Commun, v.179, n.3, Sep 30, p.1361-7. 1991.
- Waki, H., S. S. Gouraud, *et al.* Evidence of specific inflammatory condition in nucleus tractus solitarii of neurogenic hypertension. Exp Physiol, Nov 18. 2009.
- Yang, S. N., D. R. Fior, *et al.* Selective modulation of the NPY receptors of the Y2 subtype by alpha 2 receptors in the nucleus tractus solitarii of the rat. A cardiovascular and quantitative receptor autoradiographical analysis. Brain Res, v.654, n.1, Aug 15, p.137-44. 1994.
- Yang, S. N., D. R. Fior, *et al.* Coinjections of NPY(1-36) or [Leu31,Pro34]NPY with adrenaline in the nucleus tractus solitarius of the rat counteract the vasodepressor responses to adrenaline. Neurosci Lett, v.171, n.1-2, Apr 25, p.27-31. 1994.
- Yokoyama, H., D. B. Averill, *et al.* Role of blood pressure reduction in prevention of cardiac and vascular hypertrophy. Am J Hypertens, v.18, n.7, Jul, p.922-9. 2005.
- Yoon, M., M. C. Madden, *et al.* Developmental expression of aldehyde dehydrogenase in rat: a comparison of liver and lung development. Toxicol Sci, v.89, n.2, Feb, p.386-98. 2006.
- Yoshimoto, T. e Y. Hirata. Aldosterone as a cardiovascular risk hormone. Endocr J, v.54, n.3, Jun, p.359-70. 2007.

Zanutto, B. S., M. E. Valentinuzzi, *et al.* Neural set point for the control of arterial pressure: role of the nucleus tractus solitarius. Biomed Eng Online, v.9, p.4. 2010.