

LUCIANA DOS REIS RIGUEIRAL GIAQUINTO

**INDUÇÃO DE RECEPTOR B1 DE CININAS EM
VASOS SANGUINEOS DE RATOS HIPERTENSOS
POR INFUSÃO DE ANGIOTENSINA II:
ESTUDO MOLECULAR E FUNCIONAL**

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

Área de Concentração: Farmacologia

Orientadora: Prof. Dra. Maria Helena
Catelli de Carvalho

São Paulo
2010

RESUMO

GIAQUINTO, L. R. R. **Indução de receptor B1 de cininas em vasos sanguíneos de ratos hipertensos por infusão de angiotensina II: estudo molecular e funcional.** 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito modulador da infusão de angiotensina II (ANG II) na expressão de RNAm e protéica do receptor B1 (RB1) de cininas em aorta e as arteríolas mesentéricas de ratos Wistar, assim como, estudar o papel deste receptor na pressão arterial e reatividade vascular. Para isso, ratos Wistar com 10 semanas de idade receberam por 28 dias através de uma mini-bomba de infusão osmótica implantada no tecido subcutâneo ANG II [(400ng/Kg/min) grupo ANG II] ou ANG II (400ng/Kg/min) associada ao antagonista de RB1, des-Arg9-Leu8-bradicinina [(350ng/Kg/min) grupo ANG II+ DAL]. Como grupo controle deste modelo foram utilizados ratos da mesma linhagem e idade, submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico sem implante da mini-bomba de infusão osmótica. Para confirmar a eficácia da indução da hipertensão arterial por ANG II, a pressão arterial caudal foi aferida em todos os grupos semanalmente, num período de 28 dias, após o implante de mini-bomba de infusão osmótica. A expressão do RNAm e protéica do RB1 foi avaliada através de RT-PCR em tempo real e imunohistoquímica respectivamente. Foi observado que a infusão de ANG II em ratos Wistar causou hipertensão arterial, aumento da expressão de RNAm de RB1 em aorta e arteríolas mesentéricas quando comparadas àquelas do grupo controle. A expressão protéica de RB1 foi detectada em aorta, mas não em arteríolas mesentéricas de ratos ANG II. O agonista de RB1, induziu relaxamento dependente de endotélio e da geração de óxido nítrico em anéis de aorta isolada de rato ANG II, mas não alterou a reatividade de arteríolas mesentéricas estudadas tanto *in vivo* – *in situ* quanto *in vitro*. A hipertensão arterial induzida por ANG II não foi alterada pelo antagonista de RB1. Com o objetivo de avaliar a participação do RB1 na função endotelial de ratos hipertensos, curvas concentração efeito á acetilcolina (ACH), vasodilatador dependente de endotélio, foram construídas em anéis de aorta. Foi observado que a resposta máxima (RMAX) à ACH foi menor nas preparações isoladas de animais ANG II e ANG II + DAL

quando comparadas àquelas dos ratos Controle, caracterizando assim disfunção endotelial. Embora o desenvolvimento da hipertensão e a disfunção endotelial encontradas nos ratos ANG II não tenham sido corrigidos pelo DAL, a sensibilidade à ACH medida pelo pD2 e a expressão da eNOS foram maiores no grupo ANG II + DAL quando comparada com as do grupo ANG II. Nossos resultados nos permitem concluir que a ANG II modula a expressão de RB1 na aorta de ratos e que este receptor de cininas pode contribuir para alguns dos efeitos vasculares da ANG II, tal como disfunção endotelial, entretanto, não participa no desenvolvimento da hipertensão arterial causada por este peptídeo. Dessa forma, as interações dos sistemas renina-angiotensina e calicreína-cininas vão além de efeitos antagônicos classicamente descritos, uma vez que componentes destes sistemas podem atuar sinergicamente no desenvolvimento de alterações vasculares nesse tipo de modelo de hipertensão arterial.

Palavras – Chave: Hipertensão arterial. Angiotensina II. Cininas. Receptor B1.

ABSTRACT

Giaquinto, L. R. R. **Induction of kinin B1 receptor in blood vessels of angiotensin II-hypertensive rats: molecular and functional studies.** 2010. 66 p. Masters thesis (Pharmacology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The aim of the present study was to evaluate whether angiotensin II (ANG II) infusion modulates kinin B1 receptor (B1R) mRNA and protein expression in aorta and mesenteric arterioles of the Wistar rats. It was also evaluated blood pressure, aorta and mesenteric arterioles reactivity to RB1 agonist, des-Arg9-bradykinin (DABK). Wistar rats 10-weeks old were infused either with ANG II [(400ng/Kg/min) ,group ANG II] or ANG II (400ng/Kg/min) plus RB1 antagonist, des-Arg9-Leu8-bradykinin [(DAL - 350ng/Kg/min) ,group ANG II + DAL] during 28 days throughout an osmotic mini-pump subcutaneously. As a control group, Wistar rats at the same age underwent to the same surgical procedure without the mini-pump implantation. The blood pressure was measured weekly, during 28 days, by indirect tail-cuff method in conscious rats. The B1R mRNA and protein expression were assessed by RT-PCR real-time and immunohistochemistry respectively. It was observed that ANG II infusion caused hypertension, increased RB1 mRNA expression in aorta and mesenteric arterioles when compared to the ones in the control group. The RB1 protein expression was detected in aorta, but not in mesenteric arterioles of ANG II rats. We also observed that DABK, B1R agonist, induced endothelium and nitric oxide-dependent relaxation in aortic rings isolated from ANG II rats, but not in mesenteric arterioles studied *in vivo - in situ* and *in vitro*. The B1R antagonist did not interfere with the development of hypertension caused by ANG II. To evaluate the role of RB1 in the endothelial function of hypertensive rats, cumulative-concentration effect curves to acetylcholine (ACH), an endothelium-dependent vasodilator, were constructed in aortic rings isolated from ANG II, ANG II + DAL and control rats. It was observed that the maximum response (RMAX) to ACH was decreased in aortas from ANG II and ANG II + DAL rats when compared to control, characterizing endothelial dysfunction. Although the hypertension development and the endothelium dysfunction observed in

the ANG II rats were not modified by DAL, the sensitivity to ACH and eNOS expression were increased. Our results allow us to conclude that ANG II modulates the expression of B1R in aorta of rats and also that B1R may contribute to some of the vascular effects of ANG II, such as endothelial dysfunction. However, this receptor did not participate in the development of hypertension caused by ANG II. Altogether, we may suggest that the ANG II and kinins interactions go further than the opposite effects classically described. In fact, they can act synergistically in the development of vascular changes in this model of arterial hypertension.

Key words: Hypertension. Angiotensin II. Kinins. B1 receptor.

1 INTRODUÇÃO

1.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL

A hipertensão arterial, caracterizada pelo aumento crônico dos níveis pressóricos, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, o que representa hoje no mundo e no Brasil uma das maiores causas de morte, dessa forma o seu controle é um importante desafio para a saúde mundial (SHARMA, 2009; KEARNEY et al., 2005). O número estimado de adultos no ano 2000 com hipertensão foi de 1 bilhão e a estimativa para 2025 é que tenha um aumento de cerca de 60%, chegando a 1,56 bilhões de adultos hipertensos (KEARNEY et al., 2005). Dessa forma a pesquisa, prevenção, detecção, tratamento e controle desta doença devem receber alta prioridade.

Além do aumento dos níveis pressóricos a hipertensão é caracterizada pelo aumento da resistência periférica ao fluxo sanguíneo, regulada principalmente pelas artérias de resistência. Este aumento da resistência periférica na hipertensão arterial decorre das alterações estruturais processo conhecido como remodelamento vascular, alterações mecânicas e funcionais nas artérias de resistência (SCHIFFRIN, 1992).

O desenvolvimento da hipertensão arterial se dá devido a alterações e interações de vários sistemas como, sistema nervoso autônomo simpático, sistema renal, do sistema renina angiotensina (SRA) e sistema caliceína cinina (SCC) (MARCEAU, 1998), além da disfunção endotelial que acontece por um desequilíbrio da produção e liberação de fatores contráteis e relaxantes derivados do endotélio, células que revestem os vasos sanguíneos (MANO, 2010). São muitos os sistemas e mecanismos que contribuem para regular e manter a pressão arterial constante ao longo da vida do indivíduo.

O sistema nervoso autônomo simpático, por exemplo, está relacionado com os mecanismos responsáveis pela regulação momento a momento da pressão arterial. Essa regulação momento a momento também é denominada regulação a curto e medio prazo e envolvem mecanismos locais, neurais e hormonais. Nos mecanismos neurais os barroceptores, receptores que sinalizam alterações nos diferentes parâmetros funcionais do sistema cardiovascular, são responsáveis por

essa regulação. Além das respostas neurais, que ocorrem em questão de segundos, os barroceptores controlam também a liberação de vários hormônios (catecolaminas adrenais, angiotensina, vasopressina) que são coadjuvantes na manutenção dos níveis basais de pressão (KRIEGER et al; 1999).

Um importante sistema que participa ativamente da regulação neuro hormonal é o SRA aldosterona, nesse sistema os efeitos da ANG II na regulação cardiovascular são múltiplos e de grande importância, como a ação vasoconstritora direta, aumento da síntese e a liberação de aldosterona, estímulo da ingestão hídrica contribuindo adicionalmente para o aumento da volemia. (MICHELINI LC; 2008)

Diferente do sistema nervoso simpático, o controle da pressão arterial, a longo prazo, é realizado na maior parte pelo rim controlando a volemia pela absorção de sódio e água, e é influenciado pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona onde a angiotensina II que produz a vasoconstrição nas arteríolas também é responsável pela estimulação do córtex supra-renal a secretar a aldosterona.

Outro componente que participa no controle da pressão arterial, a longo prazo, é o hormônio antidiurético, que regula a osmolaridade do sangue e o volume circulante. Dessa forma podemos concluir que as alterações nesses mecanismos e sistemas, implicados na regulação cardiovascular, podem resultar direta ou indiretamente, em diversas doenças cardiovasculares.

O SRA quando ativado cronicamente desempenha um papel importante no desenvolvimento de várias doenças cardiovasculares (DCV). Neste contexto, a inibição do SRA tem sido eficaz no tratamento farmacológico da hipertensão. Este tratamento envolve três classes de fármacos: bloqueadores dos receptores de angiotensina II (ARB), os inibidores da renina e inibidores da enzima conversora da angiotensina (iECA) (CZARINA ACELAJADO et al., 2009).

Recentemente, vem sendo descrito em estudos clínicos que os efeitos protetores sobre o sistema cardiovascular (SCV) de indivíduos hipertensos, observados com a inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), envolvem, além da redução da formação de ANG II, o aumento do tempo de meia-vida de componentes do SCC, as cininas, confirmando então a relevância do SCC na manutenção da homeostase cardiovascular (DUKA et al., 2008).

1.2 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

O SRA exerce um papel importante no controle da pressão arterial (GUYTON; HALL, 2002).

A diminuição da pressão arterial estimula a síntese de renina pelas células justaglomerulares e sua liberação na corrente sanguínea. No sangue, a renina atua sobre o angiotensinogênio, globulina liberada pelo fígado, formando a angiotensina I (ANG I) decaeptídeo que, sob ação da ECA, transforma-se em ANG II, que executa diversas ações fisiológicas e fisiopatológicas através de seus receptores, uma delas é a estimulação da secreção de aldosterona do córtex adrenal (GUYTON; HALL, 2002), como mostra de forma representativa a figura 1.

A ANG II é o principal peptídeo efetor do SRA, desempenhando papel fundamental no controle da pressão arterial e equilíbrio eletrolítico (TOUYZ et al., 2000).

Como já citado, ações biológicas da ANG II acontecem pela interação com receptores acoplados à proteína G, classificados como AT1, AT2, AT3 e AT4. A maioria das ações fisiológicas da ANG II incluindo vasoconstrição, estimulação da secreção de aldosterona, retenção de sal e água e crescimento celular são mediadas pelo receptor AT1 que é expresso na maioria das células incluindo as de vasos sanguíneos, coração, adrenal, rins e pulmões (SILVERSTEIN et al., 2004; SCHIFFRIN et al., 2002). Já o receptor AT2 parece ter efeitos opostos aos da ativação do AT1, como por exemplo, vasodilatação, inibição do crescimento celular, da diferenciação celular e apoptose (WAGENAAR et al., 2002; SCHIFFRIN et al., 2002).

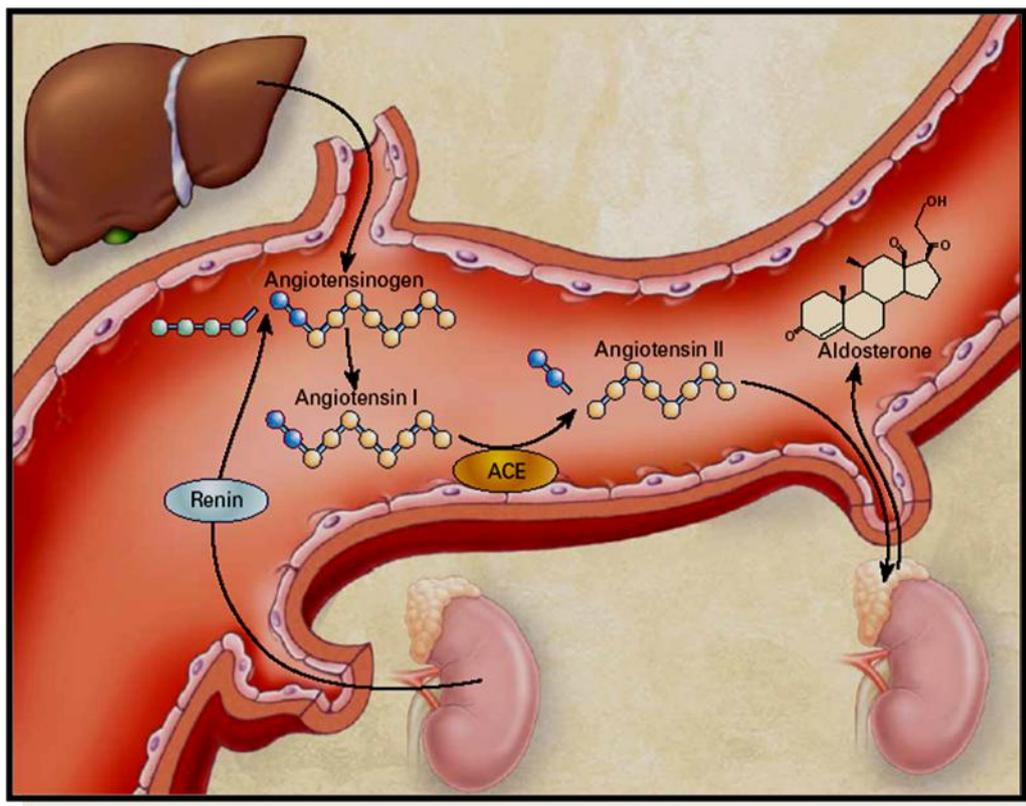


Figura 1. Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
 Fonte: Ribeiro e Plavink (2007).

Apesar da expressão do receptor AT2 em tecidos embrionários ser bastante pronunciada, em tecidos adultos é reduzida quando comparada com a expressão de receptor AT1. Algumas doenças como isquêmica de coronária, cardiomiopatia e fibrilação atrial parecem estar relacionadas com aumento da expressão de receptores AT2, que junto com o antagonismo do receptor AT1, pode ter efeito benéfico sobre essas patologias (FERRARIO et al., 2006).

Vem sendo descritos também outros peptídeos ativos no SRA como, por exemplo, os fragmentos Angiotensina (1-7) (Ang 1-7), Angiotensina (3-8) (Ang IV). Dentre estes o mais estudado é a Ang 1-7 que pode ser formada pela ação da prolil endopeptidase neutra, que cliva a Ang I liberando a Ang 1-7, ou então por ação da enzima conversora de angiotensina II (ECA 2) que cliva a ANG II e libera a Ang 1-7, cujas ações biológicas como vasodilação, natriurese, diurese e efeito anti-trófico acontecem pela interação com receptor acoplado a proteína G chamado de MAS (ABDÜL et al., 1994; SANTOS et al., 1994; SANTOS et al., 2003). Além das ações fisiológicas da ANG II sobre o sistema cardiovascular este peptídeo também está

envolvido com diversas moléstias que acometem o sistema cardiovascular, como hipertensão, aterosclerose e insuficiência cardíaca.

1.3 SISTEMA CALICREÍNA CININA

Um outro componente bastante importante no controle das funções cardiovasculares e ainda na modulação do SRA é o SCC.

No SCC as enzimas denominadas calicreínas (plasmática e tecidual) clivam os cininogênios, produzidos pelo fígado, liberando as cininas: bradicinina (BK), calidina (Lys-BK) e Met-Lys-BK.

Os efeitos biológicos exercidos por esses peptídeos duram poucos segundos, devido à sua rápida metabolização por enzimas denominadas cininases. A principal via de metabolização de BK e Lys-BK decorre da ação da cininase II ou ECA pela remoção do dipeptídeo C-terminal, tornando-as inativas (ERDÖS, 1975). Além disso, tanto BK quanto Lys-BK podem ser metabolizadas por outras enzimas, denominadas cininases I (carboxipeptidase N e M), originando os fragmentos bioativos des-Arg⁹-BK e Lys-des-Arg⁹-BK, que por sua vez, são também inativados pela ECA. (Figura 2)

INTERAÇÃO DOS SCC E SRA

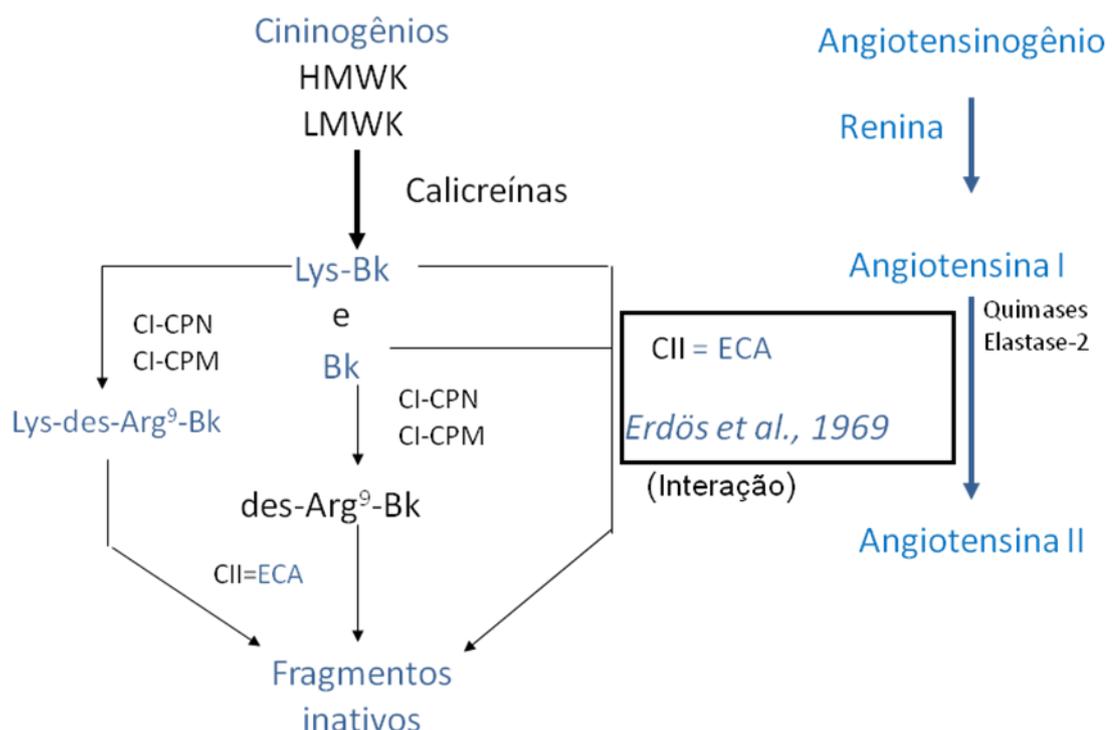


Figura 2. Interação Sistema Renina Angiotensina e Calicreína Cinina.

As diferentes ações biológicas das cininas são mediadas por dois tipos de receptores, pertencentes à superfamília de receptores acoplados à proteína G com 7 domínios transmembrânicos, classificados como B1 (RB1) e B2 (RB2). Esses receptores têm sido amplamente estudados e caracterizados, através de sua afinidade pelas diferentes cininas e seus metabólitos, por meio de farmacologia clássica (REGOLI; BARABE, 1980), ensaios de binding em tecidos humanos (HESS et al., 1992; SCHNECK et al., 1994) e por preparações *in vivo* (BHOOLA et al., 1992; LINZ et al., 1995). Os RB1 e RB2 diferem significativamente no que se refere às respostas induzidas pelas diferentes cininas, sendo o RB2 ativado por BK e Lys-BK e o RB1 sensível aos peptídeos des-Arg⁹-BK (DABK) e Lys-des-Arg⁹-BK (MARCEAU, 1995). (Figura 3).

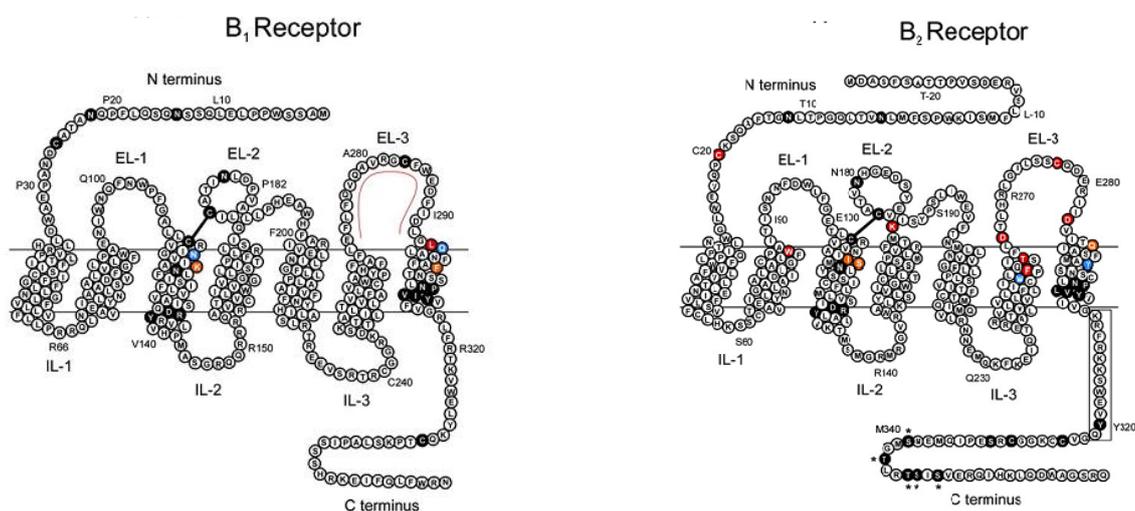


Figura 3. Receptores B1e B2 de Cininas.

O RB2 é expresso constitutivamente em diferentes tecidos, incluindo endotélio vascular, músculo liso vascular e cardiomiócitos. A participação do RB2 no controle de funções cardiovasculares está bem documentada. Os trabalhos descrevem uma vasodilatação mediada por liberação de óxido nítrico (NO), prostaciclina (PGI₂) e fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), hipotensão e proteção cardíaca (BHOOLA et al., 1992; BUSSE; FLEMING, 1996; LINZ et al., 1995). Com o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular e geração de animais *knockout*, demonstrou-se que a deleção genética de RB2 em camundongos promove aumento de sensibilidade ao sal e aumento de pressão arterial (MADDEDU et al., 1997), além de remodelamento ventricular e prejuízos funcionais ao coração (EMANUELI et al., 1999).

O RB1 não é detectado em tecidos em condições normais, mas é rapidamente induzido em situações de injúria tecidual e inflamação (MARCEAU, 1995). Classicamente define-se que a indução de RB1 é realizada por uma série de citocinas presentes no contexto inflamatório, mas vários estudos comprovaram a influência de outros fatores, como proteínas da família MAP quinase (“mitogen-activated protein”) (LARRIVÉ et al., 1998), o próprio agonista B1 (SCHANSTRA et al., 1998) e o fator de transcrição kappaB (NF-κB) (SCHANSTRA et al., 1998; NI et al., 1998; CERAVOLO et al., 2007). A indução de RB1 no SCV vem sendo descrita após infarto do miocárdio na circulação coronária (MC LEAN et al., 1999; DRUMMOND et al., 1995; PRUNEAU et al., 1996) e fibras simpáticas cardíacas (FOUCART et al., 1997), e em modelos de hipertensão em miócitos cardíacos e aorta de ratos (FERNANDES et al., 2006; CERAVOLO et al., 2007). Em vasos sanguíneos, como a aorta, sua estimulação promove relaxamento dependente do endotélio, geralmente relacionada à produção de GMPc (WOHLFART et al., 1997) e liberação de NO (SU et al., 2000; CERAVOLO et al., 2007).

Além disso, alguns autores sugerem o envolvimento de RB1 na patogênese da hipertensão em animais geneticamente hipertensos (EMANUELI et al., 2002; QUADRI et al., 2002), mas a regulação da pressão arterial em condições normais parece independe desses receptores, já que camundongos knockout para RB1 não apresentam alterações significativas dos valores pressóricos (PESQUERO et al., 2000). Entretanto, pouco se sabe sobre a importância desse receptor em situações de estímulo hipertensivo, como por exemplo, durante a infusão de ANG II.

Tem sido sugerida uma importante participação da ANG II na modulação da expressão de RB1 em órgãos do SCV. Estudos mostraram aumento da expressão de RB1 em camundongos e ratos com hipertensão renal [2 rins–1 clip (2R 1C)], modelo caracterizado por altos níveis plasmáticos de renina e ANG II, sugerindo a importância do SRA na modulação da expressão de RB1 de cininas.(FERNANDES, 2006).

Funcionalmente os efeitos dos SCC e SRA se opõem. Entretanto, as interações desses dois sistemas são complexas e nem sempre relacionadas apenas a efeitos antagônicos. Por exemplo, a ANG II conhecida por ser um potente vasoconstritor, via receptor AT1, pode ativar a produção de prostaglandinas por vias

de sinalização intracelulares de forma semelhante à BK, via RB2 (LINZ et al., 1995; TSCHÖPE; GOHLKE; ZHU, 1997; DENDORFER; WOLFRUM; DOMINIAK, 1999).

Um dos pontos de interação entre SCC e SRA melhor caracterizado é a enzima ECA ou Cininase II que é responsável pela formação da ANG II a partir da ANG I e também degrada as cininas bioativas. Dessa forma, todas as ações das cininas relacionadas ao SCV têm adquirido especial importância devido à ampla utilização de (iECA) na terapia antihipertensiva, pois esses fármacos além de reduzirem a formação de ANG II, o principal agente hipertensor do SRA, também potencializa os efeitos mediados por cininas endógenas (LINZ et al., 1995). Inúmeros estudos demonstraram a importância da ativação de RB2 nessa potencialização de efeitos, comprovando sua contribuição decisiva para as ações cardioprotetoras dos (iECA) (GOHLKE et al., 1994; SCHÖLKENS, 1996), incluindo a inibição de hipertrofia vascular e miocárdica, inibição de remodelamento e fibrose cardíaca, redução da área afetada após o infarto do miocárdio (LINZ et al., 1995), além de contribuir para a melhora de função e metabolismo energético cardíaco (ITO et al., 1997).

Além do acúmulo de BK a inibição de ECA promove também aumento dos níveis do peptídeo DABK (DECAIRE et al., 1996; BLAIS Jr. et al., 1997), principal agonista de RB1. Recentemente foi descrito que inibidores de ECA podem ativar diretamente RB1 em culturas de endotélio vascular ou em células transfectadas com cDNA para receptores B1, resultando em aumento de cálcio intracelular e produção de NO (IGNJAVOTIC et al., 2002). Além disso, Marin-Castaño et al. (2002) demonstraram que a inibição da ECA induz aumento nos níveis de RNAm para RB1 em rim, vasos e coração de ratos e que o bloqueio farmacológico desses receptores causa reversão do efeito sobre a pressão arterial de animais tratados com esses inibidores. Sabendo-se que a própria ativação de RB1 pode induzir sua expressão, o aumento nas concentrações de DABK decorrente da inibição de ECA poderia ser o responsável por essa indução (SCHANSTRA et al., 1998).

O fato de o RB1 ser induzido por moléculas relacionadas com o processo inflamatório como IL-6 e TNF- α está bem documentado (MARCEU et al., 1998) e vem sendo descrito que a ANG II, por atuar como um agente pró-inflamatório, pode modular a expressão de RB1 em órgãos do SCV. De fato, foi demonstrado em culturas de músculo liso vascular de ratos que a incubação com ANG II induziu a

expressão gênica de RB1 e esse efeito foi bloqueado pelo antagonista de receptores AT1 de ANG II, losartan (KINTSURASHIVILI et al., 2001).

Recentemente em nosso laboratório demonstrou-se que a infusão de ANG II (400ng/kg/min por 14 dias) induz a expressão de RB1 na aorta de ratos Wistar e que esta indução está relacionada com a geração de espécies reativas de oxigênio e com ativação do NF- κ B neste vaso (CERAVOLO et al., 2007). Entretanto, com este protocolo de infusão de ANG II não foi possível observar a expressão de RB1 em órgãos relacionados com o controle da pressão arterial, como, rins e arteríolas mesentéricas. Dessa forma, tivemos como objetivo nesse trabalho, aumentar o tempo de infusão de ANG II (400ng/kg/min) por 28 dias em ratos Wistar, para investigar a expressão protéica do RB1 e sua funcionalidade em outro leito vascular como, por exemplo, em arteríolas mesentéricas responsáveis pelo controle da pressão arterial.

7 CONCLUSÕES

Nossos resultados nos permitem sugerir que a ANG II modula a expressão de RNAm de RB1 na aorta de ratos e que este receptor de cininas pode contribuir de maneira sinérgica para alguns dos efeitos vasculares da ANG II, tal como disfunção endotelial, entretanto não estaria participando no desenvolvimento da hipertensão arterial.

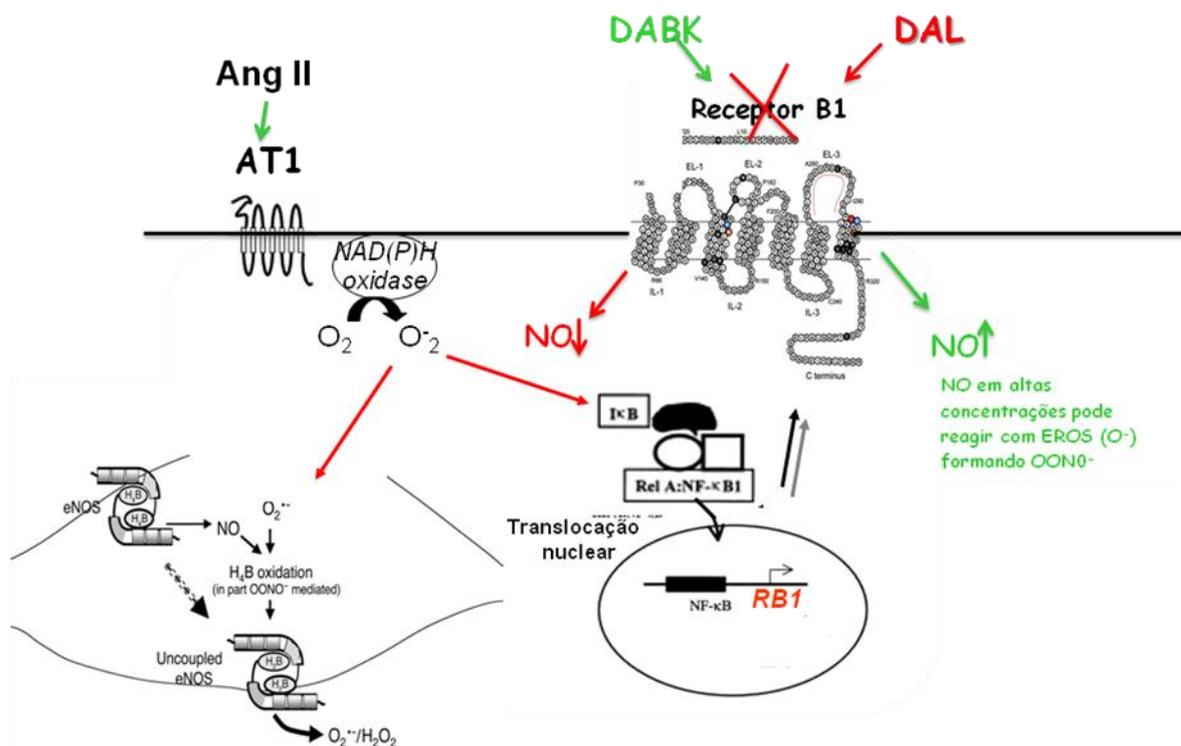


Figura 17. Esquema representativo da interação de ANG II e receptor B1 de cininas: provável mecanismo de ação. (ANG II) angiotensina II, (AT1) receptor de angiotensina II, (NAD(P)H oxidase) nicotina adenine dinucleotide phosphate na forma reduzida, (DABK) agonista RB1, (DAL) antagonista RB1, (NO) óxido nítrico, (NF-κB) fator de transcrição nuclear, (eNOS) óxido nítrico sintase endotelial, ($O_2^{\cdot-}$) ânion superóxido, ($OONO^-$) peróxinitrito, (H_2O_2) peróxido de hidrogênio, (H_4B) cofator tetrahydrobiopterin

REFERÊNCIAS*

ABDÜL, P.; FELIX, D.; KHOSLA, M. C. [D-Ala⁷-Ang-(1-7)]: Selective antagonism of angiotensin-(1-7) in the rat paraventricular nucleus. **Brain Res. Bull.**, v. 35, n. 4, p. 289-291, 1994.

ALVAREZ, A. L.; DELORENZI A.; SANTAJULIANA, D. et al. Central kininergic system in normotensive and hypertensive rats. **Clin. Sci. (Colch)**, v. 82, n. 5, p. 513-519, 1992.

BHOOLA, K. D.; FIGUEROA, C. D.; WORTHY, K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens and kininases. **Pharmacol. Rev.**, v. 44, n. 1, p. 1-80, 1992.

BLAIS Jr., C.; DRAPEAU, G.; RAYMOND, P.; LAMONTAGNE, D.; GERVAIS N.; VENNEMAN, I.; ADAM, A. Contribution of angiotensin-converting enzyme to the cardiac metabolism of bradykinin: an interspecies study. **Am. J. Physiol.**, v. 273, p. H2263-H2271, 1997.

BUSSE, R.; FLEMING, I. Molecular responses of endothelial tissue to kinins. **Diabetes**, v. 45, n. S1, p. S8-S13, 1996.

CERAVOLO, G. S.; FERNANDES, L.; MUNHOZ, C. D.; FERNANDES, D. C.; TOSTES, R. C.; LAURINDO, F. R.; SCAVONE, C.; FORTES, Z. B.; CARVALHO, M. H. Angiotensin II chronic infusion induces B1 receptor expression in aorta of rats. **Hypertension**, v. 50, n. 4, p. 756-761, 2007.

CERAVOLO, G. S.; FERNANDES, L.; TOSTES, R. C. P.; FORTES, Z. B.; CARVALHO, M. H. C. B1 receptor antagonism reduced the wall thickness of aorta in angiotensin II infused rats. **Hipertensão**, v. 10, p. 183, 2007. Suplemento. Apresentado no Congresso da Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2007.

CONTANT, M. M.; ANAND-SRIVASTAVA, M. B.; COUTURE, RÉJEAN. Kinin B1 receptor upregulation by angiotensin II and endothelin-1 in rat vascular smooth muscle cells: receptors and mechanisms **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 299, p. H1625–H1632, 2010.

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

CZARINA ACELAJADO, M.; CALHOUN, D. A. Treatment of resistant hypertension. **Minerva Cardioangiol.**, v. 57, n. 6, p. 787-812, 2009.

DECARIE, A.; RAYMOND, P.; GERVAIS, N.; COUTURE, R.; ADAM, A.; Serum interspecies differences in metabolic pathways of bradykinin and [des-Arg⁹]BK: influence of enalaprilat. **Am. J. Physiol.**, v. 270, p. H1340-1347, 1996.

DENDORFER, A.; WOLFRUM, S.; DOMINIAK, P. Pharmacology and cardiovascular implications in kinin-kallikrein system. **JPN J. Pharmacol.**, v. 79 p. 403-426, 1999.

DRUMMOND, G. R.; COCKS, T. M. Endothelium-dependent relaxation mediated by inducible B1 and B2 constitutive kinin receptors in the bovine isolated coronary artery. **Br. J. Pharmacol.**, v. 116, n. 5, p. 2473-2481, 1995a.

DUKA, I.; KINTSURASHVILI, E.; GAVRAS, I.; JOHNS, C.; BRESNAHAN, M.; GAVRAS, H. Vasoactive potential of the B1 bradykinin receptor in normotension and hypertension. **Circ. Res.**, v. 88, n. 3, p. 275-281, 2001.

DUKA, A.; KINTSURASHVILI, E.; DUKA, I.; ONA, D.; HOPKINS, T. A.; BADER, M.; GAVRAS, I.; GAVRAS, H. Angiotensin-converting enzyme inhibition after experimental myocardial infarct: role of the kinin B1 and B2 receptors. **Hypertension**, v. 51, n. 5, p. 1352-1357, 2008.

EMANUELI, C.; CHAO, J.; REGOLI, D.; CHAO, L.; NI, A.; MADEDDU, P. The bradykinin B1 receptor and the central regulation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 126, n. 8, p. 1769-1776, 1999.

EMANUELI, C.; SALIS, M. B.; STACCA, T.; PINTUS, G.; KIRCHMAIR, R.; ISNER, J. M.; PINNA, A.; GASPA, L.; REGOLI, D.; CAYLA, C.; PESQUERO, J. B.; BADER M.; MADEDDU, P. Targeting Kinin B1 receptor for therapeutic neovascularization. **Circulation**, v. 105, n. 3, p. 360-366, 2002.

ERDÖS, E. G. Angiotensin I converting enzyme. **Circulation Research**, v. 36, n. 2, p. 247-255, 1975.

FERNANDES, L.; CERAVOLO, G.S.; MORI, M. A. S.; PESQUERO, J. B.; CARVALHO, M. H. C. Modulation of Kinin B1 receptor expression by endogenous angiotensin II in hypertensive rats. **Peptides**, v. 136, n. 1-3, p. 92-97, 2006.

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, p. 3-14, 2006.

FOUCART, S.; GRODIN, L.; COUTURE, R.; NADEU, R. Modulation of noradrenaline release by B1 and B2 kinin receptor during metabolic anoxia in the rat isolated atria. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 75, n. 6, p. 639-645, 1997.

GOHLKE, P.; LINZ, W.; SCHÖLKENS, B. A.; KUWER, I.; BARTENBACH, S.; SCHNELL, A.; UNGER, T. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves cardiac function – role of bradykinin. **Hypertension**, v. 23, p. 411-418, 1994.

GOLDBLATT, H.; LYNCH, J.; HANZAL, R.F.; SUMMERVILLE, W.W.; Studies on experimental hypertension : i. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia **J. Exp. Med.**, v. 28, n. 3, p. 347-379, feb 1934.

HAGIWARA, M.; MURAKAMI, H.; URA, N.; AGATA, J.; YOSHIDA, H.; HIGASHIURA, K.; SHIMAMOTO, K. Renal protective role of bradykinin B1 receptor in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Hypertens. Res.**, v. 27, n. 6, p. 399-408, 2004.

HESS, J. F.; BORKOWSKY, J. A.; YOUNG, G. S.; STRADER, C. D., RANSOM, R. W. Cloning and pharmacological characterization of a human bradykinin (BK-2) receptor. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 184, n. 1, p. 260-268, 1992.

IGNJATOVIC, T.; TAN, F.; BROVKOVYCH, V.; SKIDGEL, R. A.; ERDÖS, E. G. Novel mode of action of angiotensin I converting enzyme inhibitors: direct action of bradykinin B1 receptor. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 19, p. 16847-16852, 2002.

ITO, K.; ZHU, Y.Z.; ZHU, Y.C.; GOHLKE, P.; UNGER, T.; Contribution of bradykinin to the cardioprotective action of angiotensin converting enzyme inhibition in hypertension and after myocardial infarction. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 5, p. 311-318, 1997.

KINTSURASHIVILI, E.; DUKA, I.; GAVRAS, I.; JOHNS, C.; GAVRAS, H. Effects of ANG II on bradykinin receptor gene expression in cardiomyocytes and vascular smooth muscle cells. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 281, n. 4, p.H1778-1783, 2001.

LARRIVÉ, J. F.; BACHVAROV, D. R.; HOULE, F.; LANDRY, J.; HUOT, J.; MARCEAU, F. Role of the mitogen-activated protein kinases in the expression of the

kinin B1 receptors induced by tissue injury. **J. Immunol.**, v. 160, n. 3, p. 1419-1426, 1998.

LINZ, W.; WIEMER, G.; GOHLKE, P.; UNGER T.; SCHÖLKENS, B. A. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. **Pharmacol. Rev.**, n. 47, v. 1, p. 25-49, 1995.

LIPP, M. N.; ROCHA, C. J. **Stress, Hipertensão Arterial e qualidade de Vida: um guia de tratamento**. 2. ed. Campinas, SP: Papirus, 1996.

LI, J. M.; SHAH, A. M. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 287, n. 5, p. R1014-R1030, 2004.

LOPES HF, SILVA HB, CONSOLIM-COLOMBO FM, BARRETO FILHO JA, RICCIO GMG, GIORGI DMA, KRIEGER EM. Autonomic abnormalities demonstrable in young normotensive subjects who are children of hypertensive parents. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 33:1-4, 200

MANO, R. Manuais de Cardiologia. Disponível em: <http://www.manuaisdecardiologia.med.br>. Acesso em: 26 mar. 2010.

MADEDDU, P.; VARONI, M. V.; PALOMBA, D.; EMANUELI, C.; DEMONTIS, M. P.; GLORIOSO, N.; DESSÌ-FULGHERI, P.; SARZANI, R.; ANANIA, V. Cardiovascular phenotype of a mouse strain with disruption of bradykinin B2-receptor gene. **Circulation**, v. 96, n. 10, p. 3570-3578, 1997.

MARCEAU, F. Kinin B1 receptors: a review. **Immunopharmacology**, v. 30, n. 1, p. 1-26, 1995.

MARCEAU, F.; HESS, J. F.; BACHVAROV, D. R. The B1 receptors for kinins. **Pharmacol. Rev.**, v. 50, n. 3, p. 357-386, 1998.

MARIN-CASTANHO, M. E.; SCHANSTRA, J. P.; NEAU, E.; PRADDAUDE, F.; PECHR, C.; ADER, J. L.; GIROLAMI, J. P.; BASCANDS, J. L. Induction of functional bradykinin B1-receptors in normotensive rats and mice under chronic angiotensin converting-enzyme inhibitor treatment. **Circulation**, v. 105, p. 627-663, 2002.

MC LEAN, P. G.; PERRETTI, M.; AHLUWALIA, A. Inducible expression of kinin B1 receptor in the endotoxemic heart: mechanisms of des-Arg⁹bradykinin-induced coronary vasodilatation. **Br. J. Pharmacol.**; v. 128, n. 2, p. 275-282, 1999.

NAKHOSTINE, N.; RIBUOT, C.; LAMONTAGNE, D.; NADEAU, R.; COUTURE R. Mediation by B1 and B2 receptors of vasodepressor responses to intravenously administered kinin in anaesthetized dogs. **Br. J. Pharmacol.**, v. 110, n. 1, p. 71-76, 1993.

NI, A.; CHAO, L.; CHAO, J. Transcription factor nuclear factor κ B regulates the inducible expression of the human B1 receptor gene in inflammation. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 5, p. 2784-2791, 1998.

KEARNEY, P. M.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P. K.; HE, J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**, v. 365, n. 9455, p. 217-223, 2005.

KINTSURASHIVILI, E.; DUKA, I.; GAVRAS, I.; JOHNS, C.; FARMAKIOTIS, D.; GAVRAS, H. Effects of ANG II on bradykinin receptor gene expression in cardiomyocytes and vascular smooth muscle cells. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, n. 281, n. 4, p. H1778-H1783, 2001.

PESQUERO, J. B.; ARAUJO, R. C.; HEPPENSTALL, P. A.; STUCKY, C. L.; SILVA, J. A. JR.; WALTHER, T.; OLIVEIRA, S. M.; PESQUERO, J. L.; PAIVA, A. C.; CALIXTO, J. B.; LEWIN, G. R.; BADER, M. Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B1 receptors. **PNAS**, v. 97, n. 14, p. 8140-8145, 2000.

PRUNEAU, D.; BELICHARD, P. Induction of bradykinin B₁ receptor-mediated relaxation in the isolated rabbit carotid artery. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 239, n. 1-3, p. 63-67, 1993.

PRUNEAU, D.; LUCCARINI, J. M.; DEFRENE, E.; PAQUET, J.L.; BELICHARD, P. Characterisation of bradykinin receptors from juvenile pig coronary artery. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 297, n. 1-2, p. 53-60, 1996.

QUADRI, F.; HÄUSER, W.; JÖUREN, O.; DOMINIAC, P. Kinin B1 and B2 receptor mRNA expression in the hypothalamus of spontaneously hypertensive rats. **Can. J. Physio. Pharmacol.**, v. 80, n. 4, p. 258-263, 2002.

REGOLI, D.; BARABÉ, J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. **Pharmacol. Rev.**, v. 32, n. 1, p. 1-46, 1980.

REGOLI, D. C.; NSA, A. S.; RIZZI, A.; GOBEIL, F. J. Bradykinin receptors and their antagonists. **Eur. J. Pharmacol.**, n. 348, p.1-10, 1981.

SANTOS, R. A. S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; BARACHO, N. C. V.; FONTES, M. A.; SILVA, L. C.; NEVES, L. A.; OLIVEIRA, D. R.; CALIGIORNE, S. M.; RODRIGUES, A. R.; GROPEN JÚNIOR, C.; et al. Characterization of a new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): evidence that the actions of angiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptors. **Brain Res. Bull.**, v. 35, n. 4, p. 293-298, 1994.

SANTOS, C. F.; CAPRIO, M. A.; OLIVEIRA, E. B.; SALGADO, M. C.; SCHIPPERS, D. N.; MUNZENMAIER, D. H.; GREENE, A. S. Functional role, cellular source, and tissue distribution of rat elastase-2, an angiotensin II-forming enzyme. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 285, n. 2, p. H775-H783, 2003.

SCHANSTRA, J. P.; BATAILLÉ, E.; MARIN CASTAÑO, M. E.; BARASCUD, Y.; HIRTZ, C.; PESQUERO, J. B.; PECHER, C.; GAUTHIER, F.; GIROLAMI, J. P.; BASCANDS, J. L. The B1-agonist [des-Arg¹⁰]-kallidin activates transcription factor NF- κ B and induces homologous upregulation of the bradykinin B1-receptor in cultured human lung fibroblasts. **J. Clin. Invest.**, v. 101, n. 10, p. 2080-2091, 1998.

SCHIFFRIN, E. L. Reactivity of small blood vessels in hypertension:relation with structural changes. State of the art lecture. **Hypertension**, v. 19, p. II-1-II-9, 1992. Supplement II.

SCHIFFRIN, E. L. Vascular and cardiac benefits of angiotensin receptor blockers. **Am. J. Med.**, v. 113, n. 5, p. 409-418, 2002.

SCHNECK, K. A.; HESS, J. F.; STONESIFER, G. Y.; RANSOM, R. W. Bradykinin B1 receptors in rabbit aorta smooth muscle cells in culture. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 266, n. 3, p. 277-282, 1994.

SCHÖLKENS, B. A. Kinins in the cardiovascular system. **Immunopharmacology**, v. 33, p. 209-216, 1996

SHARMA, J. N. Hypertension and the Bradykinin System. **Current Hypertension Reports**, v. 11, n. 3, p. 178-181, 2009.

SIEBECK, M.; WHALLEY, E.T.; HOFFMANN, H.; WEIPERT, J.; FRITZ, H. The hypotensive response to des-Arg9-bradykinin increases during *E. coli* septicemia in the pig. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 247B, p. 389-393, 1989.

SILVERSTEIN, R. L.; FENVES, A. Z.; RAM, C. V. ARBs and target organ protection. Exploring benefits beyond their antihypertensive effects. **Postgrad. Med.**, v. 116, n. 2, p. 31-38, 2004.

SU, J. B.; HOÜEL, R.; HÉLOIRE, F.; BARBE, F.; BEVERELLI F.; SAMBIN, L.; CASTAIGNE, A.; BERDEAUX, A.; CROZATIER, B.; HITTINGER, L. Stimulation of bradykinin B1 receptors induces vasodilation in conductance and resistance coronary vessels in conscious dogs. Comparison with B2 receptor stimulation. **Circulation**, v. 101, n. 15, p. 1848-1853, 2000.

TSCHÖPE, C.; GOHLKE P.; ZHU T. Antihypertensive and cardioprotective effects after angiotensin-converting enzyme inhibition: role of kinins. **J. Card. Fail**, v. 3, p. 133-148, 1997

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, n. 4, p. 639-672, 2000.

WAGENAAR, L. J.; VOORS, A. A.; BUIKEMA, H.; VAN GILST, W. H. Angiotensin receptors in the cardiovascular system. **Can. J. Cardiol.**, v. 18, n. 12, p. 1331-1339, 2002.

WEIR, M. R.; DZAU, V. J. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management. **Am. J. Hypertens.**, v. 12, n. S9, p. 205S-213S, 1999.

WOHLFART, P.; DEDIO, J.; WIRTH K.; SCHÖLKENS B. A.; WIEMER, G. Different B1 kinin receptor expression and pharmacology in endothelial cells of different origins and species. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 280, n. 2, p. 1109-1116, 1997.

ZWEIFACH, B. W. Indirect methods for regional blood flow. I. Microscopic observation of circulation in rat mesoappendix and dog omentum. Use in study of vasotropic substances. **Methods Med. Res.**, v. 1, p. 131-138, 1948.