

**THAIS CRISTINA SOUZA DE OLIVEIRA**

**“Ação da angiotensina II associada ao bloqueio  
dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> no processo inflamatório  
das lesões vasculares”**

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

São Paulo  
2010

**THAIS CRISTINA SOUZA DE OLIVEIRA**

**“Ação da angiotensina II associada ao bloqueio  
dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> no processo inflamatório  
das lesões vasculares”**

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

Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Prof. Dra. Silvia Lacchini

São Paulo  
2010

## RESUMO

SOUZA, T. C. **Ação da angiotensina II associada ao bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> no processo inflamatório das lesões vasculares.** 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010

A hipótese do presente estudo é a de que a angiotensina II (AngII), agindo sobre o seus receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>, é capaz de desencadear processos inflamatórios iniciais, que podem compor parte dos mecanismos envolvidos no processo de lesão vascular ou até mesmo aumentar a predisposição a desenvolver a lesão. Para testar esta hipótese, os objetivos do presente estudo foram: 1) avaliar a expressão de marcadores iniciais de inflamação em resposta à ação da AngII, e 2) avaliar por qual receptor (AT<sub>1</sub> ou AT<sub>2</sub>) a AngII leva à expressão destes marcadores inflamatórios. O estudo foi realizado em camundongos machos C57Bl/6J, submetidos ao tratamento com doses subpressoras de angiotensina II, bloqueadores dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> e uma combinação destes. Os tempos de tratamento foram determinados através de uma curva de tempo-resposta feita com injeções subpressoras de AngII. Após o estabelecimento dos tempos pela curva temporal, foram preparados seis grupos de animais como segue: controle, tratados com ang II, losartan, ang II + losartan, PD123.319 e ang II + PD123.319. Após o tempo de tratamento, os corações foram analisados quanto à expressão de marcadores inflamatórios (TGFβ, IL-1β, IL-6, TNFα e ICAM-1) nas artérias cardíacas por imunohistoquímica e o sangue foi usado para a quantificação de marcadores inflamatórios (IL-1β e TNFα) sistêmicos por ELISA. Os resultados obtidos mostraram que a Ang II leva ao aumento local de TGFβ e IL-6 após 30 minutos e a um aumento mais tardio sobre IL-1β e ICAM-1 em aproximadamente 12 horas. Os bloqueios dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> nos tempos de 30 minutos e 12 horas, de acordo com a expressão dos marcadores inflamatórios observados mostrou que a Ang II tem seu efeito pró-inflamatório mediado pelo receptor AT<sub>1</sub> e que o receptor AT<sub>2</sub> parece ter efeito antagônico ao AT<sub>1</sub> sobre a expressão de IL-1β.

**Palavras-chave:** Angiotensina II. Receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>. Marcadores inflamatórios. Moléculas de adesão.

## ABSTRACT

SOUZA, T. C. **Action of Angiotensin II associated with the blockade of AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> receptors in the inflammatory process of vascular lesions.** 2010. 84 p. Master thesis (Morphofunctional Sciences) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010

The hypothesis of this study is that angiotensin II (Ang II) acting on the AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> receptors, is capable of triggering early inflammatory processes that may compose part of the mechanisms involved in vascular injury or even increase predisposition to develop the lesion. To test this hypothesis, the objectives of this study were 1) to evaluate the expression of early markers of inflammation in response to the action of AngII, and 2) to evaluate which receptor (AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub>) to Ang II leads to the expression of these inflammatory markers. The study was performed in C57Bl/6J male mice, treated with subpressor doses of angiotensin II receptor blockers and AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> combination thereof. Treatment times were determined using a time-response curve performed with injections of AngII subpressor. After setting the time by temporal curve, were prepared six groups of animals as follows: control, treated with ang II, losartan, Ang II + losartan, and Ang II + PD123.319 PD123.319. After the treatment period, hearts were analyzed for expression of inflammatory markers (TGFβ, IL-1β, IL-6, and TNFα ICAM-1) in cardiac arteries by immunohistochemistry and the blood was used for quantification of markers inflammatory (IL-1 and TNFα) systemic by ELISA. The results showed that Ang II leads to increased local TGFβ and IL-6 after 30 minutes, and a later increase in IL-1β and ICAM-1 in approximately 12 hours. The blockades of AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> in 30 minutes and 12 hours, according to the expression of inflammatory markers was observed that Ang II has a proinflammatory effect mediated by the AT<sub>1</sub> receptor and AT<sub>2</sub> receptor seems to have an antagonistic effect to AT<sub>1</sub> on the expression of IL-1 β.

**Key words:** Angiotensin II. Receptor AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub>. Inflammatory markers. Adhesion molecules.

# **1 INTRODUÇÃO**

## **1.1 Doenças Vasculares**

Nas últimas décadas, inúmeros estudos foram publicados a respeito das doenças vasculares, tendo em vista que são elas as principais causas de morbidade e mortalidade na sociedade ocidental. Os desfechos mais comuns são infartos do miocárdio e cerebral, aneurisma de aorta e doença vascular periférica, geralmente decorrente de arteriosclerose que contribui para lesões degenerativas, e fibrose em pequenas artérias, ou aterosclerose, doença de artérias elásticas com grande camada média, principalmente, coronárias, aorta, carótidas, grandes artérias cerebrais e periféricas (ROSS, 1995).

Os mecanismos que determinam ou levam ao desenvolvimento de tais doenças ainda não foram completamente esclarecidos devido à grande complexidade das interações celulares tanto em situações fisiológicas quanto patológicas. As artérias são órgãos complexos cuja parede é um conjunto ativo e integrado composto por células endoteliais, células musculares lisas e fibroblastos, interligados uns aos outros por uma rede de interações autócrinas e parácrinas, podendo se adaptar a múltiplas variações hemodinâmicas e mecânicas (GIMBRONE et al., 1997).

## **1.2 Importância da Biologia Endotelial na Integridade Vascular**

O organismo depende do suprimento adequado de sangue aos tecidos para oferta de oxigênio, glicose, aminoácidos, lípidos, etc, ou seja, depende do endotélio vascular íntegro para funcionar normalmente e não sofrer alguma alteração que leve à perda da função. O endotélio encontra-se em posição estratégica, recobrando todo o sistema cardiovascular, desde o coração, grandes, médias e pequenas artérias, microartérias e capilares, bem como toda a árvore venosa, grandes, médias e pequenas veias que conduzem o sangue de volta ao coração (WILTING, 2002).

O conhecimento sobre a função da célula endotelial mudou muito nas últimas duas décadas quando, em 1980, Furchgott e Zawadzki demonstraram que as células endoteliais são capazes de modular o tônus vascular (LACCHINI, 2004). A célula

endotelial controla ativamente não apenas o tônus vascular, como também a coagulação, trombólise, remodelamento vascular e a resposta inflamatória e imune. Neste contexto, uma série de trabalhos vem mostrando que as células endoteliais regulam a proliferação de monócitos (PAKALA e BENEDICT, 1999), tônus vascular (MONCADA et al., 1991), inflamação, metabolismo lipídico (GIMBRONE, 1999), crescimento celular, migração celular e integração com matriz extracelular (WEISSBERG, 1999) através de mecanismos mediados por receptores.

A célula endotelial está exposta aos componentes e constituintes do sangue, como os leucócitos, plaquetas, citocinas, fluxo de sangue, hormônios, lipídeos, moléculas sinalizadoras, alta tensão de oxigênio, baixa concentração de proteínas, bem como a fatores hemodinâmicos, como estresse de cisalhamento e tensão de parede (VIEGAS e LACCHINI, 2007). O endotélio é capaz de detectar e responder adequadamente a qualquer estímulo: mecânico, físico ou químico, processando as informações e liberando fatores que modificam o tônus vascular, a função plaquetária, a adesão de moléculas, as alterações metabólicas e a permeabilidade capilar através das junções intercelulares.

Embora as células das três túnicas que compõem o vaso (íntima, média e adventícia) possam participar deste processo, o endotélio apresenta papel preponderante, já que a superfície endotelial está constantemente exposta a fatores humorais, mediadores inflamatórios e forças físicas (LÜSCHER e NOLL, 1995)

O endotélio se encontra localizado estrategicamente para servir como sensor celular, percebendo sinais hemodinâmicos e humorais que vão desencadear determinada resposta conforme o estímulo que tenha sofrido, bem como sendo um efetor de respostas biológicas que podem eventualmente afetar a estrutura do vaso (GIMBRONE, 1995; LÜSCHER e NOLL, 1995). Além disso, moléculas de adesão, expressas pelo endotélio, agem como iniciadores críticos para a resposta inflamatória, mediando a passagem de leucócitos da parede vascular para o interstício (GIBBONS e DZAU, 1994).

### **1.3 Alterações da Função Endotelial**

As alterações da função endotelial podem ser consideradas um indício de um processo inflamatório ou imune, já que as células endoteliais são de suma importância para que seja mantida a integridade das funções vasculares, as múltiplas características que permitem sua participação na regulação fina da resposta imunológica, agindo precoce e eficientemente frente à sinalização de qualquer alteração que não seja fisiológica.

Quando as células endoteliais são expostas a um estímulo lesivo ou não, ocorre alteração do seu estado. Tal estímulo pode ser biológico, químico ou mecânico, modificando o balanço na síntese e liberação de substâncias vasoativas. Dentre as substâncias vasoativas, com efeito, vasodilatador temos: o óxido nítrico (NO) o mais potente agente vasodilatador que também tem ações de inibição da agregação plaquetária, da coagulação e proliferação vascular, a bradicinina (dependente da ação do NO), a prostaciclina (também potente contra agregação plaquetária), além dos vasodilatadores como a Serotonina, histamina e Substância P. Já as substâncias vasoativas com efeito, vasoconstritor liberadas são Ang II, Endotelina 1, a serotonina (no endotélio lesado), a prostaglandina H<sub>2</sub>, a trombina e o ácido araquidônico. (LACCHINI, 2004).

Na interação da disfunção endotelial associada ao Sistema Renina Angiotensina, podemos observar um aumento da quantidade de Ang II quando comparada à fisiológica, como é mostrado, por exemplo, em situações como a aterosclerose. Além disso, observações de alterações teciduais locais causadas por Ang II a longo prazo também são observadas em rins com fibrose e hipertrofia, e sistema cardiovascular com remodelamento vascular e apoptose de células endoteliais, o que desencadeia alterações na função do sistema cardiovascular (WATANABE et al., 2005).

### **1.4 Endotélio e Resposta Inflamatória**

O endotélio é extremamente importante para manter a integridade dos vasos e o fato deste se encontrar localizado estrategicamente para servir como sensor celular, pode desencadear o início de um processo inflamatório.

A resposta inflamatória vascular vai causar uma pequena vasoconstrição seguida de vasodilatação, ocasionando o aumento da permeabilidade nos espaços entre as células endoteliais, e o aumento da pressão osmótica intersticial vai contribuir para a presença de edema, e a exsudação do plasma para o espaço extravascular, ocasionando nas células endoteliais marginação, rolamento, adesão dos leucócitos. Estes processos ocorrem por ação das moléculas de adesão (selectinas E, P e L, imunoglobulinas, integrinas e glicoproteínas) presentes no leucócito e no endotélio que são complementares e vai gerar transmigração através do endotélio (diapedese) (DELVES et al., 2000).

A partir da comprovada inflamação, quando ocorre a diapedese, teremos a lesão vascular e poderemos afirmar que as células musculares lisas têm papel essencial em doenças como aterosclerose e restenose seguida à injúria por balão; após a injúria da parede arterial, células musculares lisas migram da camada média para a íntima e proliferam, formando a chamada neoíntima ou mioíntima (NAFTILAN, 1994; ROSS, 1999).

A parede vascular é caracterizada pela presença de três túnicas, com particularidades próprias conforme a função desempenhada. Estas túnicas, partindo da mais interna, são denominadas túnicas íntima, média e adventícia. Vasos de grande calibre têm médias e adventícias nutridas por vasos próprios denominados *vasa vasorum* (WILTING, 2002), e a configuração geral das túnicas são diferente para a rede de alta pressão (artérias) e a de baixa pressão (veias).

Os principais tipos celulares encontrados na parede dos vasos são células endoteliais, células musculares lisas e fibroblastos, ligados uns aos outros por uma rede de interações autócrinas e parácrinas, podendo se adaptar a múltiplas variações hemodinâmicas e mecânicas (GIMBRONE et al., 1997). Além dos componentes celulares, a parede vascular é composta de matriz extracelular, produzida pelas próprias células, essencial na regulação da homeostasia e arquitetura tecidual (STAMENKOVIC, 2003). Assim, o vaso é capaz de modificar sua estrutura e função (TULIS et al., 1998).

Podemos dizer que quando o endotélio arterial entra em contato com certos produtos de bactérias ou fatores de risco, modifica seu funcionamento, passando a expressar moléculas de adesão que promovem a migração de leucócitos para dentro da parede arterial (LIBBY e THEROUX, 2005). Entre estes fatores de risco, destacam-se



dislipidemia, hormônios vasoconstritores, produtos de glicoxidação associados à hiperglicemia (GOLDIN et al., 2006), espécies reativas de oxigênio (ELLIS e TRIGGLE, 2003) e citocinas pró-inflamatórias derivadas de tecido adiposo.

A migração dos leucócitos para o espaço subendotelial depende, principalmente, da expressão de citocinas quimioatrativas (como a MCP-1). Além disso, a atividade destas células leva à produção de mediadores relacionados à inflamação e à imunidade, como prostanoídes e outros derivados do ácido araquidônico, além da liberação de histamina, que leva ao aumento da permeabilidade vascular. A maior consequência deste processo inflamatório é a migração das células musculares lisas para a íntima, o que vai gerar um espessamento e a deposição de matriz extracelular (LACCHINI, 2007).

### **1.5 Sistema Renina Angiotensina**

Os mecanismos que determinam ou que levam ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares ainda não estão completamente elucidados devido à grande complexidade das interações celulares tanto em situações fisiológicas como patológicas. Porém, o papel do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) nas fisiopatologias cardiovasculares vem sendo bastante pesquisado.

As inúmeras funções do SRA têm sido descritas nos últimos anos, especialmente em modelos relacionados à regulação da pressão arterial. No entanto, a rápida expansão das técnicas de biologia molecular permitiu que os componentes do SRA fossem clonados e seqüenciados (DZAU et al., 1995), determinando a sua distribuição tecidual. Assim, a definição endócrina clássica do SRA considerando-o componente de uma cascata enzimática produzida em locais bem definidos, tendo como seu principal peptídeo efetor a Ang II exercendo suas ações em órgãos-alvo distantes do local de produção levou ao desenvolvimento do conceito de “sistemas renina-angiotensina teciduais” com funções autócrinas e parácrinas, não-hemodinâmicas, tendo seus componentes observados em muitos tecidos (TAMURA et al., 1995; KOBAYASHI e TAKEI, 1996; IRIGOYEN et al., 2005).

A ativação do SRA vascular em seguida à lesão ou disfunção endotelial tem papel importante na patogênese do remodelamento vascular e aterosclerose,

verificando-se aumento da expressão de angiotensinogênio na camada média e na neointima de artérias submetidas à lesão vascular por balão (RAKUGI et al., 1993). Além disso, encontrou-se forte associação entre o aumento da expressão da enzima conversora de angiotensina I (ECA) - enzima chave na cascata enzimática para a produção de angiotensina II - e lesões ateroscleróticas (OHISHI et al., 1997). Embora evidências sugiram a existência de enzimas semelhantes à ECA (quimases) na média e na adventícia de vasos e outros tecidos (DEMEY, 1995), demonstrou-se que não ocorre a co-localização entre a Ang II e quimases, devendo a Ang II ser produzida por ação direta da ECA no processo aterosclerótico (OHISHI et al., 1999).

A ECA é importante na contratilidade da musculatura lisa vascular e também para o crescimento desta musculatura, contribuindo para o desenvolvimento da hiperplasia da íntima e hipertrofia da média (DZAU et al., 1995). Neste sentido, recentemente demonstrou-se em camundongos geneticamente modificados submetidos à lesão vascular e contendo um número crescente de cópias do gene da ECA, que esta pode ser considerada um fator de susceptibilidade à lesão vascular. Observou-se que tanto o grau de lesão quanto a atividade da ECA exatamente na região da lesão, aumentavam concomitantemente ao maior número de cópias do gene (LACCHINI et al., 2004, 2007).

Recentemente, Hutchinson et al. (1999) demonstraram a importância funcional dos receptores da angiotensina II ( $AT_1$  e  $AT_2$ ) na lesão vascular, verificando re-expressão de fenótipo neonatal para estes receptores após a injúria da carótida. Hoje se sabe que existem vários tipos de receptor AT, que estão envolvidos em ações específicas da Angiotensina II ou das outras Angiotensinas. Está claro também que as ações dos receptores  $AT_2$  funcionalmente se opõem às ações dos receptores  $AT_1$  (NAVAR et al., 2000), podendo a própria angiotensina II agir simultaneamente sobre ambos os receptores, de modo a permitir uma modulação de seus efeitos (ARIMA e ITO, 2001). Neste sentido sabe-se também que a Angiotensina II atua no processo aterosclerótico, aumentando a biossíntese de colesterol por macrófagos através da ativação de receptores  $AT_1$  (KEIDAR et al., 1999).

Um outro fator que reforça esta idéia da participação da Ang II nestes processos está no fato de que se observou que a produção de Angiotensina II se encontra aumentada na placa de ateroma, na aorta aterosclerótica e na restenose após angioplastia ou implante

de stent. Ainda, o antagonismo dos receptores AT<sub>1</sub> reduz a disfunção endotelial e o espessamento da íntima em vasos ateroscleróticos (OHISHI et al., 1997; RIBICHINI et al., 2000).

## **1.6 Angiotensina II e Inflamação**

Estudos recentes ampliam o conhecimento sobre eventos celulares mediados pela Ang II, sugerindo que seu papel biológico é amplo, indo de intracelular ao tecido ou ao sistema (TAUBMAN, 2003). A Ang II também tem sido identificada como um fator de aceleração de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose, através de seu efeito sobre a síntese de colesterol por macrófagos (KEIDAR, 1999).

Embora grande parte destes dados provenha de estudos em rim, pode-se postular os processos pelos quais a Ang II funcionaria como citocina pró-inflamatória no vaso, micro-ambiente normalmente afetado pelo SRA (IRIGOYEN et al., 2003). Ressalta-se, ainda, que pacientes hipertensos apresentam aumento de moléculas de adesão no soro e em células inflamatórias (RUIZ-ORTEGA et al., 2001), fato que deve estar diretamente associado às ações inflamatórias da Ang II.

A Ang II, além de ser um hormônio que exerce um papel central na homeostase cardiovascular, regulando a vasoconstrição e a pressão arterial (TAUBMAN, 2003), vem sendo considerada uma citocina multifuncional com propriedades não-hemodinâmicas, entre as quais a de fator de crescimento, de citocina pró-fibrinogênica e pró-inflamatória (WOLF et al., 2003), e modulador da resposta imunológica, levando à quimiotaxia, à proliferação e à diferenciação de monócitos em macrófagos (RUIZ-ORTEGA et al., 2001).

A Angiotensina II é produzida na parede vascular (DZAU et al., 1995) e é capaz de gerar hiperplasia da íntima independentemente de efeitos hemodinâmicos ou neurohumorais (NAFTILAN, 1994; ROSS, 1999). Além de estimular a ativação de programas de transcrição para diversos genes de proteínas e moléculas que levam a modificações na função vascular, como MMPs, MCP-1, V-CAM, VEGF e PAI-1 (DZAU e LOPEZ-ILASACA, 2005), entre outros: interleucinas, TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ .

A atividade do TGF- $\beta$  dependente da Ang II promove a progressão do aneurisma aórtico em condições experimentais através da inibição da sinalização de IFN $\gamma$ , IL-4, IL-6 ou TNF $\alpha$  (WANG et al., 2010). Estudos sugerem um papel crítico do TGF $\beta$  na preservação da integridade estrutural do vaso em camundongos. Porém, recentes estudos em ratos transgênicos com síndrome de Marfan levaram a uma mudança do entendimento da fisiopatologia da formação do aneurisma, mostrando um papel fundamental para o aumento da patogenicidade do TGF $\beta$  na sinalização da promoção do remodelamento anormal do vaso, dilatação, e expansão do aneurisma (WANG et al., 2010). Assim, o papel preciso e direto da atividade das citocinas inflamatórias nas doenças vasculares ainda é desconhecido.

## CONCLUSÕES

Considerando o conjunto dos resultados apresentados, podemos concluir que a dose de 30ng/kg de angiotensina II não aumenta a pressão arterial significativamente, permitindo considerar seus efeitos independentes da hemodinâmica. Assim, podemos concluir que:

1. A angiotensina II induziu respostas precoces dos marcadores IL-6 e TGF $\beta$  nas artérias coronárias. Já as respostas de marcação de IL-1 $\beta$  foram um pouco mais tardias, podendo dever-se de forma indireta à ação da angiotensina II. O aumento de IL-6 e IL-1 $\beta$  pode ter sido o responsável pela marcação aumentada de ICAM-1 num período posterior.
2. Os efeitos pró-inflamatórios induzidos pela angiotensina II são mediados pelo receptor AT1 para TGF- $\beta$  e IL-6 em períodos precoces, e para IL-1 $\beta$  e ICAM-1 em períodos mais tardios. Além disso, o receptor AT2 parece ter ação antagonica ao AT1 em relação à expressão de IL-1 $\beta$ .

## REFERÊNCIAS\*

ANNES, J. P.; MUNGER, J. S.; RIFKIN, D. B. Making sense of latent TGFbeta activation. **J. Cell. Sci.**, v. 116, p. 217-224, 2003.

ARIMA, S.; ITO, S. New insights into actions of the renin-angiotensin system in the kidney: concentrating on the Ang II receptors and the newly described Ang-(1-7) and its receptor. **Semin. Nephrol.**, v. 21, n. 6, p. 535-543, 2001.

DE MEY, J. G. R. Smooth muscle cell proliferation in hypertension: possible contribution to arterial remodeling. In: SCHWARTZ, S. M.; MECHAM, R. P. (Eds.) **The vascular smooth muscle cell** – molecular and biological responses to the extracellular matrix. San Diego: Academic Press, 1995. p.361-400.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The immune system first of two parts. **New Engl. J. Med.** Jul. v. 6, v.343(1), p.37-49, 2000. Published erratum appears in New Engl. J. Med., v. 12, n. 343, p.1132, 2000.

DENDORFER, U.; OETTGEN, P.; LIBERMANN, T. A. Multiple regulatory elements in the interleukin-6 gene mediate induction by prostaglandins, cyclic AMP, and lipopolysaccharide. **Mol. Cell Biol.**, v. 14, n.7, p. 4443-54, 1994.

DZAU, V. J.; KRIEGER, J. E.; HUTCHINSON, H. G. Molecular mechanisms of hypertension. In: HABER, E. (Ed.) **Molecular cardiovascular medicine**. Chap.15, New York: Scientific American Inc., 1995. p. 225-442.

DZAU, V. J.; LOPEZ-ILASACA, M. Searching for transcriptional regulators of Ang II-induced vascular pathology. **J. Clin. Invest.**, v. 115, n. 9, p. 2319-2322, 2005.

ELLIS, A.; TRIGGLE, C. R. Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 81, p. 1013–1028, 2003.

FERRARIO, C. M.; STRAWN, W. B. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Proinflammatory Mediators in Cardiovascular Disease. **Am J Cardiol.**, v. 98, p. 121–128, 2006.

FURCHGOTT, R.; ZAWADZKI, J. V. B. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v.288, n. 5789, p. 373-6, 1980.

GIBBONS, G. H.; DZAU, V. J. Mechanisms of disease: the emerging concept of vascular remodeling. **New Engl. J. Med.**, v. 330, p. 1431-1438, 1994.

GIBBONS, G. H.; PRATT, R. E.; DZAU, V. J. Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs Hyperplasia. Autocrine transforming growth factor-β1 expression determines growth responses to angiotensin. **J. Clin. Invest.** v. 90, p. 456-61, 1992.

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

GIBSON, C. M. Comparison of effects of effects of bare metal versus drug-eluting stent implantation on biomarker levels following percutaneous coronary intervention for non-ST-elevation acute coronary syndrome. **Am. J. Cardiol.** v. 97, p. 1473-1477, 2006.

GIMBRONE, M. A. JR. Vascular endothelium in health and disease. In: HABER, E. (Ed.) **Molecular Cardiovascular Medicine**. New York: Scientific American Inc., 1995. Chap. 4. p. 49-62.

GIMBRONE, M. A. Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis. **Am. J. Pathol.** v. 155, p. 1-5, 1999.

GIMBRONE, M. A. Jr.; NAGEL, T.; TOPPER, J. N. Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. **J. Clin. Invest.**, v. 99, n. 8, p.1809-1813, 1997.

GOLDIN, A.; BECKMAN, J. A.; SCHMIDT, A. M.; CREAGER, M. A. Advanced glycation end products sparking the development of diabetic vascular injury. **Circulation**, v. 114, p. 597-605, 2006.

GRAINGER, D. J. Transforming growth factor- $\beta$  and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis. **Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.**, v. 24, p. 399-404, 2004.

Grande, M. T.; Pérez-Barriocanal, F.; López-Novoa, J. M.. Role of inflammation in túbulo-interstitial damage associated to obstructive nephropathy. **J. Inflamm.**, v. 7, p. 19-32, 2010.

HEINRICH, P. C. et al. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/jak/STAT pathway. **Biochem. J.** v. 334, p. 297-314, 1998.

HORIUCHI, M. et al. Stimulation of Different Subtypes of Angiotensin II Receptors, AT1 and AT2 Receptors, Regulates STAT Activation by Negative Crosstalk. **Circ. Res.**, v. 84, p. 876-882, 1999.

HORIUCHI, M.; LEHTONEN, J. Y. A.; DAVIET, L. Signaling Mechanism of the AT2 Angiotensin II Receptor: Crosstalk between AT1 and AT2 Receptors in Cell Growth. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 10, p. 391-396, 1999.

HUTCHINSON, H. G.; HEIN, L.; FUJINAGA, M.; PRATT, R. E. Modulation of vascular development and injury by angiotensin II. **Cardiovasc. Res.** v.41, p.689-700, 1999.

IRIGOYEN, M. C.; et al. **Tratado de Cardiologia SOCESP**. São Paulo: Manole, 2005.

KEIDAR, S.; ATTIAS, J.; HEINRICH, R.; COLEMAN, R.; AVIRAM, M. Angiotensin II atherogenicity in apolipoprotein E deficient mice is associated with increased cellular cholesterol biosynthesis. **Atherosclerosis**, v. 146, p. 249-257, 1999.

KOBAYASHI, H.; TAKEI, Y. **The Renin-Angiotensin System** – comparative aspects. Berlin: Springer-Verlag, 1996.

- LACCHINI, S. Óxido Nítrico: perspectivas clínicas na função endotelial. **Rev. Soc. Cardiol. Rio Gd. Sul**, p. 1-4, 2004.
- LACCHINI, S.; HEIMANN, A. S.; EVANGELISTA, F. S.; CARDOSO, L.; SILVA, G. J.; KRIEGER, J. E. Cuff-induced vascular intima thickening is influenced by titration of the Ace gene in mice. **Physiol Genomics**. v. 37, n. 3, p. 225-30, 2009.
- LACCHINI, S; IRIGOYEN, M. C. Estrutura e Função do Sistema Cardiovascular. In: AYRES, M. M. (Ed.). **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 2007.
- LIBBY, P.; THEROUX, P. Pathophysiology of coronary artery disease. **Circulation**. v. 111, p. 3481-8, 2005.
- LÜSCHER, T. F.; NOLL, G. The endothelium as a regulator of vascular tone and growth. In: LÜSCHER, T.F. (Ed.). **The endothelium in cardiovascular disease**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 1-25
- MASSAGUE, J.; SEOANE, J.; WOTTON, D. Smad transcription factors. **Genes Dev.**, v. 19, p. 2783-2810, 2005.
- MATHUR, N.; PEDERSEN, B. K. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. **Mediators Inflamm.**, doi:10.1155/2008/109502, 2008.
- MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, n. 2, p.109-142, 1991.
- NAFTILAN, A. J. Role of the tissue renin-angiotensin system in vascular remodeling and smooth muscle cell growth. **Curr. Opinion Nephrol. Hypert.**, v. 3, p. 218-227, 1994.
- NAVAR, L. G.; HARRISON-BERNARD, L. M.; NISHIYAMA, A.; KOBORI, H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. **Hypertension**. v.239, p.316-22, 2000.
- OHISHI, M.; UEDA, M.; RAKUGI, H. Enhanced expression of angiotensin-converting enzyme is associated with progression of coronary atherosclerosis in humans. **J. Hypertens.**, v. 15, n. 11, p.1295-1302, 1997.
- OHISHI, M.; UEDA, M.; RAKUGI, H. Relative localization of angiotensin-converting enzyme, chymase and angiotensin II in human coronary atherosclerotic lesions. **J. Hypertens.**, v. 17, p. 547-553, 1999.
- PAKALA, R.; BENEDICT, C. R. Endothelial cells regulate the proliferation of monocytes in vitro. **Atherosclerosis**, v. 147, p. 25-32, 1999.
- PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. **Physiol Rev.**, v. 88, p. 1379-1406, 2008.
- RAKUGI, H.; JACOB, H. J.; KRIEGER, J. E. et al. Vascular injury induces angiotensinogen gene expression in the media and neointima. **Circulation**, v. 87, p. 283-290, 1993.



- RIBICHINI, F. et al. Angiotensin-converting enzyme tissue activity in the diffuse in-stent restenotic plaque. **Circulation**, v. 101, p. e33-e35, 2000.
- ROSS R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. **New. Engl. J. Med.** v. 340, p. 115-126, 1999.
- ROSS, R. Arteriosclerosis: an overview. In: HABER, E. (Ed.). **Molecular Cardiovascular Medicine**. New York: Scientific American, 1995. Chap. 2. p. 11-30
- RUIZ-ORTEGA, M. et al. Role of the renin-angiotensin system in vascular disease – expanding the field. **Hypertension**, v. 38, p. 1382-7, 2001.
- RUIZ-ORTEGA, M. TGF- $\beta$  signaling in vascular fibrosis. **Cardiol Res.**, v. 74, p. 196-206, 2007.
- SAKUTA, T. Involvement of the Renin–Angiotensin System in the Development of Vascular Damage in a Rat Model of Arthritis Effect of Angiotensin Receptor Blockers. **Arthritis Rheum.**, v. 62, p. 1319–1328, 2010.
- SATA, M.; FUKUDA, D. Crucial role of rennin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. **J. Med. Inverstig.**, v. 57, p. 12-25, 2010.
- SCHIEFFER, B. et al. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. **Circ. Res.**, v. 87, p. 1195-1201, 2000.
- SCHUETT, H.; LUCHTEFELD, M.; GROTHUSEN, C.; GROTE, K.; SCHIEFFER, B. How much is too much? Interleukin-6 and its signaling in atherosclerosis. **Thromb. Haemost.**, v. 102, p. 215-222, 2009.
- SEHGAL, P. B. Regulation of IL-6 gene expression. **Res. Immunol.**, v. 143, p. 724-734, 1992.
- SIMON, G.; ILLES, G.; CSIKY, B. Structural vascular changes in hypertension – role of angiotensin II, dietary sodium supplementation, blood pressure, and time. **Hypertension**, v. 32, p.654-660, 1998.
- STAMENKOVIC, I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. **J. Pathol.**, v. 200, p. 448-464, 2003.
- TAMURA, K. et al. Recent advances in the study of renin and angiotensinogen genes: from molecules to the whole body. **Hypertens. Res.**, v. 18, p. 7-18, 1995.
- TAUBMAN, M. B. Angiotensin II – a vasoactive hormone with ever-increasing biological roles. **Circ. Res.**, v. 92, p. 9-11, 2003.
- TULIS, D. A.; UNTHANK; J. L.; PREWITT, R. L. Flow-induced arterial remodeling in rat mesenteric vasculature. **Am. J. Physiol.**, v. 274, H874-H882, 1998.
- VIEGAS, K. A. S.; LACCHINI, S. Injúria vascular e reestenose. In: KRIEGER, J.E. (Ed.). **Bases Moleculares das Doenças Cardiovasculares: a integração entre a pesquisa e a prática clínica**. São Paulo: Atheneu, 2008. p.415-432.

WASSMANN, S. et al Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin II type 1 receptor. **Circ. Res.**, v.94, p.534-541, 2004.

WATANABE, T.; BARKER, T.A.; BERK, B. C. Angiotensin II and the endothelium: diverse signals and effects. **Hypertension**, v. 45, p. 63-169, 2005.

WEIGERT, C.; BRODBECK, K.; KLOPFER, K.; HARING, H. U.; SCHLEICHER, E. D. Angiotensin II induces human TGF- $\beta$ 1 promoter activation: similarity to hyperglycaemia. **Diabetologia**, v. 45, p. 890-8, 2002.

WEISSBERG, P. Mechanisms modifying atherosclerotic disease – from lipids to vascular biology. **Atherosclerosis**, v. 147 (suppl. 1), S3-S10, 1999.

WILTING, J. Integrated vascular anatomy. In: LANZER, P.; TOPOL, E.J. (Eds.). **Pan Vascular Medicine** – integrated clinical management. Berlin: Springer. 2002. p. 50-75.

WOLF, G.; BUTZMANN, U.; WENZEL, U.O. The rennin-angiotensin system and progression of renal disease: from hemodynamics to cell biology. **Nephron Physiol.**, v. 93, p. 3-13, 2003.

ZEGARSKA, J. et al. Increased mRNA expression of transforming growth factor beta in the arterial wall of chronically rejected renal allografts in humans. **Transplant Proc.**, v. 38, p. 115-8, 2006.

ZHANG, X.; WU, D.; JIANG, X. ICAM-1 and Acute Pancreatitis Complicated by Acute Lung Injury. **J. Pancreas**, v. 10, n. 1, p.8-14, 2009.