

**ALINE CARLA INADA**

**COMPONENTES DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA NO TECIDO  
ADIPOSO PERIVASCULAR DA AORTA TORÁCICA E DO LEITO MESENTÉRICO:  
ALTERAÇÕES PROMOVIDAS PELA OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA  
HIPERLIPÍDICA**

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: Profa. Dra. Eliana Hiromi Akamine

Versão original

São Paulo  
2016

## RESUMO

Inada AC. Componentes do sistema renina-angiotensina no tecido adiposo perivascular da aorta torácica e do leito mesentérico: alterações promovidas pela obesidade induzida por dieta hiperlipídica. [dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2016.

A obesidade é caracterizada por inflamação no tecido adiposo. A angiotensina II via receptor AT1 induz estresse oxidativo e inflamação vascular. O tecido adiposo perivascular (PVAT) circunda os vasos sanguíneos, possui ação parácrina na parede vascular e é classificado como marrom e branco, sendo que este último é mais propenso à inflamação. No presente estudo, avaliamos os componentes do sistema renina-angiotensina no PVAT marrom (da aorta torácica - AT) e branco (do leito mesentérico - LM) de camundongos controles (CT) e obesos (OB). O RNAm para angiotensinogênio tanto no PVAT marrom quanto no PVAT branco foi reduzido em camundongos OB. A atividade enzimática da ECA 1 foi reduzida no PVAT-marrom do grupo OB em comparação ao grupo CT e foi semelhante no PVAT branco dos dois grupos. No PVAT marrom, o conteúdo proteico do receptor AT1 (AT1R) foi semelhante nos grupos CT e OB e o receptor AT2 (AT2R) não foi detectado no PVAT dos dois grupos. No PVAT branco, o conteúdo proteico dos receptores AT1 e AT2 foi aumentado no grupo OB. A expressão de RNAm do receptor CCR2 de MCP-1 (proteína quimiotáxica de monócitos) no PVAT marrom foi semelhante nos dois grupos, mas foi aumentada no PVAT branco do grupo OB. O conteúdo proteico da MCP-1 foi aumentado no PVAT branco do grupo OB em relação ao grupo CT. O tratamento de camundongos OB com antagonista de receptor AT1 de angiotensina II (losartana; 10 mg/kg) por 30 dias, não reverteu os parâmetros que caracterizam a obesidade e não diminuiu a expressão de MCP-1 no PVAT branco. Em relação aos componentes do sistema renina-angiotensina, o PVAT marrom e o PVAT branco respondem de maneira diferente à obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

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

## ABSTRACT

Inada AC. Components of renin angiotensin-system in perivascular adipose tissue in thoracic aortic and mesenteric bed: alterations promoted by high-fat diet obesity. [Masters thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2016.

Obesity is characterized by inflammation in adipose tissue. Angiotensin II/AT1 receptor pathway induces oxidative stress and vascular inflammation. Perivascular adipose tissue surrounds blood vessels and has paracrine actions in the vascular wall. It is classified as brown and white being the last one more willing to inflammation. In the present study, we evaluated the components of renin angiotensin-system in brown (thoracic aortic - TA) and white (mesenteric bed – MB) PVAT in lean (CT) as well as in obese mice (OB). RNAm content of angiotensinogen in brown and white PVAT was reduced in obese mice. ACE1 activity was lower in brown PVAT of OB group in comparison to CT group and it was similar to white PVAT in both groups. In brown PVAT, protein content of AT1 receptor (AT1R) was similar to CT and OB groups and AT2 receptor (AT2R) was not detected in both groups. In white PVAT, protein contents of AT1R and AT2R were increased in obese group. RNAm expression of CCR2 receptor from MCP-1 (monocytes chemoattractant protein 1) in brown PVAT was similar to both groups; however, it was increased in white PVAT in OB group. Protein content of MCP-1 was increased in white PVAT in OB group. Treatment in obese mice with angiotensin II receptor blocker (ARB) (losartan; 10 mg/kg) for 30 days did not reverse the parameters which characterize obesity and did not diminish MCP-1 expression in white PVAT. In relation to the components of renin angiotensin-system, brown and white PVAT responded differently to high-fat diet obesity.

Keywords: Perivascular Adipose Tissue. Renin Angiotensin-System. Obesity. Inflammation.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Obesidade

A expectativa de vida foi marcada por uma volatilidade na taxa de mortalidade causada pela fome e a guerra, bem como por uma série de doenças infecciosas epidêmicas e pandêmicas no passado. Em meados do século XIX, devido a melhores condições de vida, avanços na ciência e intervenções médicas, a expectativa de vida da população estabeleceu aos poucos um padrão positivo. Porém, a obesidade por ser uma epidemia global na sociedade moderna, pode resultar em uma diminuição nos parâmetros de longevidade da população norte-americana (Olshansky et al., 2005). Todavia, a obesidade não atinge somente os países desenvolvidos, mas também os países em desenvolvimento (Ahima, 2011).

Segundo a *World Health Organization* (WHO), o número de pessoas obesas no mundo dobrou desde 1980. Em 2014, mais de 1,9 bilhões de adultos, com idade igual ou superior a 20 anos estavam em sobrepeso, isso é equivalente a 39% dos indivíduos. Desses 1,9 bilhões de adultos em sobrepeso, mais de 600 milhões eram obesos, o que é proporcional a 13% da população adulta mundial, dos quais 11% eram homens e 15% mulheres (WHO, 2015). Em países como Brasil, França e Canadá existem mais de 40% de indivíduos em sobrepeso e nos EUA e Alemanha esse número ultrapassa 65% (WHO, 2008). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mais de 16% de mulheres adultas e 12% de homens adultos são considerados obesos no Brasil (IBGE, 2008).

O processo de urbanização levou a uma modificação nos hábitos do dia a dia dos indivíduos como um todo. É evidente que nos países em desenvolvimento, as dietas indígenas ricas em frutas, vegetais e peixes foram substituídas por dietas ocidentais mais baratas e com maior teor energético (Ahima, 2011; Mavoa et al., 2008). Ainda, a mão de obra foi substituída por máquinas, automóveis passaram a ser utilizados em demasia e assistir televisão tornou-se o foco da atividade rotineira. Em outras palavras, as pessoas, em sua grande maioria, tornaram-se extremamente sedentárias.

O índice de massa corpórea (IMC) é utilizado para classificar se um indivíduo é obeso e é dado pela razão entre a massa corporal (kg) e a altura elevada ao quadrado (m<sup>2</sup>). Os parâmetros de IMC para classificação dos indivíduos são:

indivíduos com IMC entre 18,50 a 24,99 são normais; indivíduos com IMC entre 25,0 e 29,99 estão com sobrepeso (classe I); indivíduos com IMC superior a 30 são obesos (classe II); e indivíduos com IMC superior a 40 são obesos mórbidos (classe III) (James, 2008; WHO, 2015).

Não só o acúmulo de tecido adiposo deve ser considerado, mas também, a localização dos depósitos de gordura corpórea, pois esta será determinante não somente no fenótipo da obesidade como em suas consequências patológicas (Aghamohammadzadeh et al., 2012; Zraika et al., 2002). Por essa razão, a relação cintura-quadril e a circunferência abdominal são outros parâmetros importantes na caracterização da obesidade, sendo indicativos de acúmulo de gordura visceral e fatores de risco para doenças cardiovasculares (Wang et al., 2008).

A obesidade é uma epidemia global de etiologia multifatorial em que vários fatores, como susceptibilidade genética, alterações metabólicas, sexo, idade, dieta e sedentarismo estão interligados e é caracterizada pela expansão do tecido adiposo e acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal decorrentes de um desequilíbrio entre o gasto calórico e a captação energética. O excesso de gordura corpórea está intimamente ligado à dislipidemia, resistência à insulina, hipertensão arterial, levando ao aumento da prevalência de doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (Niehues et al., 2014; van Stijn et al., 2014).

A correlação entre as consequências patológicas e o ritmo de vida em que os indivíduos se deparam no mundo moderno resulta no aumento da mortalidade e torna a epidemia da obesidade um problema de saúde pública mundial de grande impacto econômico e social. Os mecanismos que levam às co-morbidades relacionadas com a obesidade não são totalmente elucidados e, por essa razão, devem ser estudados para que os tratamentos ou as formas de prevenção sejam mais eficazes.

## **1.2 Tecido adiposo**

O tecido adiposo é o maior reservatório energético do corpo, porém, ao longo das últimas duas décadas, o conceito de que o tecido adiposo é apenas um local de estoque energético mudou e, atualmente, ele é reconhecido como um tecido que secreta diversas substâncias biotivas, conferindo a esse tecido funções endócrinas. O tecido adiposo é principalmente composto de adipócitos, representando 50% das células, porém outros tipos celulares contribuem para o crescimento e função do

tecido adiposo, incluindo pré-adipócitos, linfócitos, macrófagos, fibroblastos e células vasculares (Ouchi et al., 2011).

Dentre os principais constituintes do tecido adiposo estão os adipócitos. Estes, por sua vez, estocam triacilglicerol em períodos de excesso energético e mobilizam triacilglicerol durante o gasto energético. Para que os adipócitos alcancem a maturidade e tornem-se funcionais, é necessário o processo de adipogênese, que é constituído de duas etapas. A primeira etapa envolve as células mesenquimais não-diferenciadas, que se diferenciam em pré-adipócitos e estes são submetidos a uma segunda etapa de diferenciação para que se tornem adipócitos maduros. O processo de adipogênese requer ativação sequencial de numerosos fatores, incluindo o PPAR- $\gamma$  (Peroxisome Proliferator Activator Receptor- $\gamma$ ), IGF-1 (fator de crescimento derivado de insulina 1), MCSF (fator estimulador de colônia derivado de macrófagos), ácidos graxos, prostaglandinas e glicocorticoides (Ali et al., 2013).

Os diferentes depósitos de gordura são constituídos de adipócitos brancos e marrons e a proporção dessas células irá variar de acordo com o gênero, espécie, nutrição, ambiente e, conseqüentemente, determinará a coloração do tecido. Os adipócitos marrons são prevalentes no tecido adiposo marrom, enquanto os adipócitos brancos são prevalentes no tecido adiposo branco. Os adipócitos marrons são encontrados somente em mamíferos e diferem dos adipócitos brancos por expressarem maior quantidade de UCP-1 (uncoupling protein-1), que é uma proteína mitocondrial transmembrana, cuja ativação resulta na geração de calor. Morfologicamente, adipócitos marrons são multiloculares, ou seja, apresentam várias vesículas de lipídeos, possuem aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  de diâmetro e são ricos em mitocôndrias (Bloor, Symonds, 2014; Rosen, Spielgeman, 2006).

Os adipócitos brancos armazenam lipídeos na forma de triacilglicerol em uma única gota lipídica, ou seja, é uma estrutura unilocular que ocupa 85-90% do citoplasma e empurra o núcleo para a periferia. Fisiologicamente, os adipócitos brancos atingem aproximadamente 90-100  $\mu\text{m}$  de diâmetro, sendo muitas vezes maiores do que as hemácias, fibroblastos e células do sistema imunológico, e possuem a capacidade de alterar acentuadamente seu tamanho (volume e diâmetro) conforme a quantidade de triacilglicerol acumulado (Fonseca et al., 2006).

O tecido adiposo marrom é encontrado em recém-nascidos e adultos, principalmente nas regiões cervicais e supra claviculares, fornecendo proteção à

exposição ao frio por gerar calor através do processo de termogênese (Cannon, Nedergaard, 2012). O tecido adiposo branco é encontrado em mamíferos nas regiões subcutâneas e viscerais. Os depósitos viscerais compreendem a região retroperitoneal, mesentérica e omental. Ainda, o depósito branco participa da regulação do balanço energético mediante processos de lipogênese e lipólise (Bloor, Symonds, 2014; Proença et al., 2014).

Uma das principais funções do tecido adiposo branco é sua participação no metabolismo lipídico incluindo o estoque de triglicerídeos durante o consumo energético e a liberação de ácidos graxos quando o gasto energético excede a captação energética. Em condições fisiológicas normais, os processos de lipogênese e lipólise ocorrem em sintonia e equilíbrio. A lipogênese é a síntese de ácidos graxos esterificados a partir de enzimas. Estes são translocados e estocados nas gotas lipídicas dos adipócitos brancos. Para que os tecidos não adiposos, como fígado e músculo esquelético, tenham disponíveis ácidos graxos e glicerol necessários para o metabolismo energético, o processo de lipólise por enzimas lipolíticas no tecido adiposo branco se faz presente para que se mantenha a homeostase metabólica (Vásquez-Vela et al., 2008).

Na obesidade, o aumento no número de pré-adipócitos e do tamanho dos adipócitos causa expansão do tecido adiposo branco, quando ocorre uma excessiva captação energética e o remodelamento do tecido adiposo ocorre através do aumento do estoque de triglicerídeos, levando à hipertrofia do adipócito. Essa hipertrofia leva a um desequilíbrio lipolítico e lipogênico causando uma disfunção na sinalização endócrina. No tecido adiposo branco ocorre a liberação de várias substâncias bioativas de maneira desequilibrada, causada pelo excesso de adiposidade, levando à disfunção dos adipócitos e contribuindo para a disfunção metabólica e cardiovascular presentes na obesidade. Essas substâncias secretadas pelo tecido adiposo são denominadas adipocinas e a expressão dessas substâncias bioativas podem variar dependendo da localização do depósito do tecido adiposo. (Ouchi et al., 2011).

Os estudos pioneiros das adipocinas tiveram início em 1987, do qual Cook e colaboradores identificaram uma substância denominada adipina, conhecida como fator do complemento D. Em 1993, Hotamisligil e colaboradores observaram expressão do fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), uma citocina pró-inflamatória, no

tecido adiposo, sendo que sua expressão estava aumentada no depósito de gordura epididimal em camundongos obesos e a neutralização do TNF- $\alpha$  reduzia a resistência à insulina associada com a obesidade. Subsequentemente, em 1994, Zhang e colaboradores identificaram uma proteína expressa no tecido adiposo denominada leptina, que é o produto do gene *ob*, também conhecido como *Lep*. Assim, a partir da descoberta da leptina, o tecido adiposo foi considerado um tecido com funções endócrinas (Lago et al., 2007).

A leptina regula o comportamento alimentar e o metabolismo de glicose e lipídios atuando no sistema nervoso central na região do hipotálamo, induzindo fatores anorexígenos (CART, POMC) e inibindo fatores orexígenos (NPY, AGRP e orexina). Camundongos com falta de leptina, denominados camundongos *ob/ob*, mostram hiperfagia, obesidade e resistência à insulina, e a administração de leptina nesses camundongos reverte essas alterações. A produção da leptina ocorre no tecido adiposo e sua liberação depende do tamanho dos adipócitos. As ações biológicas da leptina ocorrem através da ligação a seus receptores, que são codificados pelo gene *db* e pertence à super família do receptor de citocina de classe 1. Os *splicings* alternativos do gene *db* dão origem a seis isoformas, a forma solúvel Ob-Re, quatro isoformas com domínios citoplasmáticos curtos (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd e Ob-Rf) e a isoforma longa Ob-R, que é a mais encontrada em quase todos os tecidos (Friedman, Halaas, 1998; Lago et al., 2007; Shurk et al., 2007).

Sabe-se que além da leptina, o tecido adiposo libera outras adipocinas que podem ser de caráter pró e anti-inflamatório (Ouchi et al., 2011). Nesse grupo incluem-se citocinas (TNF- $\alpha$  e IL-6), proteínas do sistema do complemento alternativo (adipsina), inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1), proteínas envolvidas na regulação da pressão arterial (angiotensinogênio), proteínas da regulação da homeostasia da glicose (adiponectina - ACRP30), fatores que induzem angiogênese (fator de crescimento endotelial vascular - VEGF), proteínas de fase aguda (PCR) e quimiocinas (MCP-1, IL-8 e CCL5) (Ouchi et al., 2011; Trayhurn, 2005). O acúmulo de tecido adiposo está associado ao desenvolvimento de inflamação crônica de baixo grau em indivíduos obesos, devido ao aumento na liberação de adipocinas pró-inflamatórias e redução de fatores anti-inflamatórios, possuindo um importante papel no desenvolvimento da disfunção endotelial, estresse oxidativo e resistência à insulina em indivíduos obesos (Fernandez-Sánchez, 2011).



Devido ao aumento de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo durante a obesidade, ocorre também, a infiltração de macrófagos no tecido adiposo. Em 2003, Weisberg e colaboradores demonstraram pela primeira vez, a presença de macrófagos infiltrados no tecido adiposo perigonadal, perirenal, mesentérico e subcutâneo de camundongos com diferentes graus de adiposidade e em tecido adiposo subcutâneo de humanos obesos. Esse aumento do conteúdo de macrófagos no tecido adiposo está relacionado com dois parâmetros de adiposidade: o índice de massa corpórea e o tamanho do adipócito (Weisberg et al., 2003).

Antes dos macrófagos se infiltrarem nos tecidos, estas células estão na circulação sanguínea na forma de monócitos. Os monócitos são liberados para a circulação periférica onde vão circular por vários dias antes de se infiltrarem nos tecidos e constituírem as populações de macrófagos nos tecidos. Além disso, estímulos imunológicos, metabólicos e pró-inflamatórios aumentarão o recrutamento de monócitos nos tecidos, onde se diferenciarão em macrófagos e células dendríticas, contribuindo para a defesa do hospedeiro, remodelamento e reparo tecidual (Gordon, Taylor, 2005).

As populações de macrófagos são classificadas em: macrófagos ativados classicamente, denominados macrófagos M1 e macrófagos ativados alternativamente, denominados macrófagos M2. A população M1 pode ser induzida *in vitro* por fatores de crescimento de células hematopoiéticas derivadas da medula óssea. Os macrófagos M2 podem ser induzidos por fatores estimulantes de colônia de macrófagos (M-CSF e IL-4). Além disso, os macrófagos M1 são conhecidos por secretarem citocinas pró-inflamatórias, enquanto os macrófagos M2 secretam citocinas anti-inflamatórias. (Osborn, Olefsky, 2012).

Em camundongos obesos foi demonstrado que as populações de macrófagos possuem a capacidade de polarização, ou seja, o fenótipo anti-inflamatório de macrófagos ativados alternativamente (M2) pode mudar para um fenótipo pró-inflamatório de macrófagos ativados classicamente (M1) (Lumeng et al., 2007). Assim, a maior infiltração de macrófagos presente na obesidade irá predispor a uma exacerbação da inflamação do tecido adiposo branco.

### **1.3 Tecido adiposo perivascular**

O tecido adiposo perivascular (PVAT) está localizado ao redor dos vasos sanguíneos, com exceção dos vasos sanguíneos cerebrais. O PVAT possui contato direto com a adventícia sem a presença de uma barreira anatômica, por essa razão, mediadores secretados por esse tecido podem ter fácil acesso às células do músculo liso nos vasos sanguíneos (Chatterjee et al., 2009; Eringa et al., 2007). Além disso, o PVAT é composto por dois tipos de adipócitos, o marrom e o branco, e possui diferentes componentes celulares dependendo do leito vascular (Gao, 2007).

Em PVAT de aorta torácica, os adipócitos presentes são predominantemente marrons. Fitzgibbons e colaboradores observaram que o PVAT da aorta torácica de camundongos possui características morfológicas muito semelhantes ao tecido adiposo marrom interscapular. Dentre as características apresentadas estão a maior expressão de proteína UCP-1, grande quantidade de mitocôndrias e adipócitos multiloculares (Fitzgibbons et al., 2011). Em contrapartida, o PVAT de artérias mesentéricas, aorta abdominal e artérias coronárias possuem características de tecido adiposo branco. O PVAT desses leitos vasculares expressam pequena quantidade de proteína UCP-1, os adipócitos presentes são uniloculares, com maior diâmetro, possuindo características celulares semelhantes aos depósitos de gordura branca. (Chatterjee et al., 2009; Gálvez-Prieto et al., 2012; Police et al., 2009).

O PVAT foi considerado por muito tempo apenas como um tecido estrutural. No entanto, em 1991, Soltis e Cassis observaram que o PVAT promovia diminuição na resposta contrátil à noradrenalina em aorta torácica de ratos e, assim, apontaram pela primeira vez um papel do PVAT na modulação da contração vascular. A explicação para esse efeito ainda é desconhecida, mas sabe-se que seus efeitos são mediados por ativação de canais de potássio (K<sup>+</sup>) por tirosina quinases e hiperpolarização das células do músculo liso vascular e parece ser dependente também de óxido nítrico (NO) (Dubrovskaja et al., 2004; Gao et al., 2006; Soltis, Cassis, 1991).

Em condições fisiológicas, o PVAT parece liberar substâncias vasoativas, tais como fatores relaxantes derivados dos adipócitos (ADRF) (Dubrovskaja et al., 2004), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Gao et al., 2006), angiotensina 1-7 (Lu et al., 2010), NO (Gil-Ortega et al., 2010), leptina (Gálvez-Prieto et al., 2012), levando a um efeito anti-contrátil vascular (Dubrovskaja et al., 2004; Fernandez-Alfonso et al., 2010; Gao, 2007). O efeito anti-contrátil parece estar diminuído na obesidade. Gao e colaboradores demonstraram

que o efeito anti-contrátil do PVAT foi perdido em modelos de animais obesos apesar da grande quantidade de gordura perivascular, sugerindo que, na obesidade, o aumento de PVAT pode estar relacionado com mudanças nas expressões dos fatores derivados do PVAT, resultando em alterações vasculares (Férrandez-Alfonso et al., 2013; Gao et al., 2005).

O PVAT libera não só fatores relaxantes como também fatores contráteis. Gao e colaboradores foram os primeiros a descreverem que a presença do PVAT aumenta a vasoconstrição, o que abriu novas perspectivas da função do PVAT na regulação da função vascular. O grupo observou que o PVAT aumenta a vasoconstrição em resposta à ativação do nervo perivascular pela estimulação do campo elétrico e este aumento, poderia estar envolvido na liberação de ânion superóxido e ativação das vias de tirosina quinase e MAPK/ERK (Gao et al., 2007). Outros estudos demonstraram que elevada concentração de angiotensina II estava presente em PVAT de artéria mesentérica de ratos (Gálvez-Prieto et al., 2008). A angiotensina II é um vasoconstritor e está envolvido na formação de superóxido por estimular a NADPH oxidase (Kawazoe et al., 2000). Considerando esses aspectos, a homeostasia dos fatores relaxantes e contráteis derivados do PVAT é importante para manter o tônus vascular normal e o desequilíbrio desses fatores pode contribuir para o desenvolvimento da disfunção vascular.

Além dos fatores vasoativos, o PVAT libera diferentes citocinas e quimiocinas dependendo do leito vascular em que esse tecido se encontra. Police e colaboradores observaram que em PVAT da aorta abdominal, que é considerado um tecido adiposo branco, de camundongos obesos induzidos por dieta hiperlipídica, houve maior liberação e expressão de MCP-1 e de seu receptor, o CCR2. Ainda, a infiltração de macrófagos no PVAT de aorta abdominal foi superior em comparação ao PVAT da aorta torácica nesse modelo animal (Police et al., 2009). Outros estudos demonstraram que o PVAT de aorta torácica de camundongos tratados com dieta hiperlipídica apresenta maior resistência à infiltração de macrófagos em comparação ao tecido adiposo visceral (gordura epididimal) desses animais (Fitzgibbons et al., 2011). Nesse sentido, o PVAT marrom parece ser menos susceptível a processos inflamatórios.

Além disso, Chatterjee e colaboradores demonstraram aumento na expressão e secreção de citocina pró-inflamatória (IL-6), bem como de quimiocinas (IL-8 e MCP-

1), e diminuição de adiponectina no PVAT de artérias coronárias e adipócitos brancos diferenciados de humanos quando comparado com os depósitos de gordura subcutânea e visceral. Esses resultados sugerem que os adipócitos perivasculares de humanos podem apresentar um estado pró-inflamatório e que o PVAT possui papel importante na inflamação da adventícia, o que pode contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose (Chatterjee et al., 2009). Como já descrito, o PVAT possui ação parácrina nos vasos sanguíneos liberando uma série de moléculas biologicamente ativas e, assim, o desequilíbrio dos fatores derivados do PVAT durante os processos patológicos pode resultar em disfunções vasculares bem como em um microambiente pró-inflamatório, aumentando o risco para doenças cardiovasculares.

#### **1.4 Sistema renina-angiotensina**

O sistema renina-angiotensina (SRA) é um importante regulador da homeostasia da pressão sanguínea, da função renal, de processos metabólicos, do crescimento e da proliferação celular de vários tecidos (Sanjuliani et al., 2011). Simplificadamente, o angiotensinogênio, que é uma proteína glicosilada secretada primeiramente pelo fígado, sendo o principal peptídeo precursor do SRA, é clivado pela renina, uma enzima produzida nas células justaglomerulares nos rins, formando a angiotensina I, que é um decapeptídeo biologicamente inativo, sendo que através da enzima conversora de angiotensina (ECA 1) será clivada no principal peptídeo efetor desse sistema: a angiotensina II (Frigolet et al., 2013) (Figura 1).

A angiotensina II, o octapeptídeo efetor do SRA, exerce seu efeito fisiológico via dois receptores acoplados à proteína G, AT1 e AT2, que possuem funções opostas em muitos tipos celulares (Hourichi et al., 1999). O receptor AT1 interage com muitas proteínas G heterotriméricas, produzindo diferentes segundos mensageiros, por exemplo, o trifosfato de inositol, diacilglicerol e espécies reativas de oxigênio. A maioria dos efeitos patológicos da angiotensina II se dá pela ligação desse peptídeo com o receptor AT1. Dentre as respostas mediadas pelo receptor AT1 estão a vasoconstrição, aumento da sede, produção de aldosterona, reabsorção de sódio, ativação do sistema nervoso simpático, hipertrofia e fibrose (Higuchi et al., 2007; Nguyen et al., 2011).

Existem dois subtipos de receptor AT1 conhecidos como AT1a e AT1b. Os receptores AT1 de humanos compartilham 95% da homologia do receptor AT1 de

roedores. O receptor AT1a é expresso nos rins, glândula adrenal, fígado, cérebro e tecido adiposo (Cassis et al., 1996; Dinh et al., 2001); enquanto o receptor AT1b é expresso de forma limitada nas glândulas adrenal e pituitária, hipotálamo e vasos de resistência (Burson et al., 1994; Chen et al., 1992; Johren et al., 1995; Zhou et al., 2005).

Além disso, a angiotensina II pode exercer suas funções por intermédio do receptor AT2. Este receptor medeia suas ações através da ativação de várias fosfatases, incluindo serina/fosfatase 2A (PP2A) e MAPK fosfatase (MKP-1), pela geração de NO e ativação de vias anti-inflamatórias e anti-fibróticas (de Gasparo et al., 2000; Lemarié, Schiffrin, 2010). O receptor AT2 é altamente expresso durante o desenvolvimento fetal sendo que sua expressão é mais restrita em adultos, sendo demonstrado aumento da expressão desse receptor no cérebro, glândula adrenal, fígado, rins, miocárdio, endotélio e tecido adiposo em algumas condições patológicas (Darimont et al., 1994; Grady et al., 1991; Unger, 1999).

Nas últimas décadas, a visão convencional do SRA passou por modificações. Novos membros do SRA foram identificados e a expressão de componentes do SRA em diferentes tecidos foi caracterizada. Dentre os peptídeos do SRA que parecem ter ações biológicas estão a angiotensina III, angiotensina IV, angiotensina 1-7, angiotensina 1-9 e, mais recentemente, a angiotensina 1-12 e alamandina (Balakumar, Jagadeesh, 2014; Montezano et al., 2014).

Nos últimos dez anos, muitos estudos apresentaram evidências de uma nova via do SRA, mais conhecida como o eixo enzima conversora de angiotensina 2/ angiotensina 1-7/ receptor Mas. A descoberta da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2) e seus substratos, como por exemplo a angiotensina 1-7, mudou toda a visão da via canônica do SRA. Essas descobertas permitiram uma visão diferente sobre o papel do SRA e sua influência na fisiopatologia de doenças cardiovasculares e renais (Santos et al., 1988; Santos et al., 2013).

A angiotensina 1-7 é um heptapeptídeo que pode ser sintetizado a partir da angiotensina I e angiotensina II. Através da angiotensina I, as enzimas propil-endopeptidase (PEP) e endopeptidase neutra (NEP) levam à formação de angiotensina 1-7. Por outro lado, mediante angiotensina II, a angiotensina 1-7 é convertida por intermédio da ECA2 (Passos-Silva et al., 2013) (Figura 1). As ações da angiotensina 1-7 são mediadas através de um receptor acoplado à proteína G,

chamado de receptor Mas (MasR), promovendo muitas ações importantes, como vasodilatação, redução de espécies reativas do oxigênio, efeitos antitrombóticos e melhora no metabolismo de lipídeos e glicose em diferentes órgãos e tecidos. (Fraga-Silva et al., 2008; Santos et al., 2005; Santos, 2010, 2012).

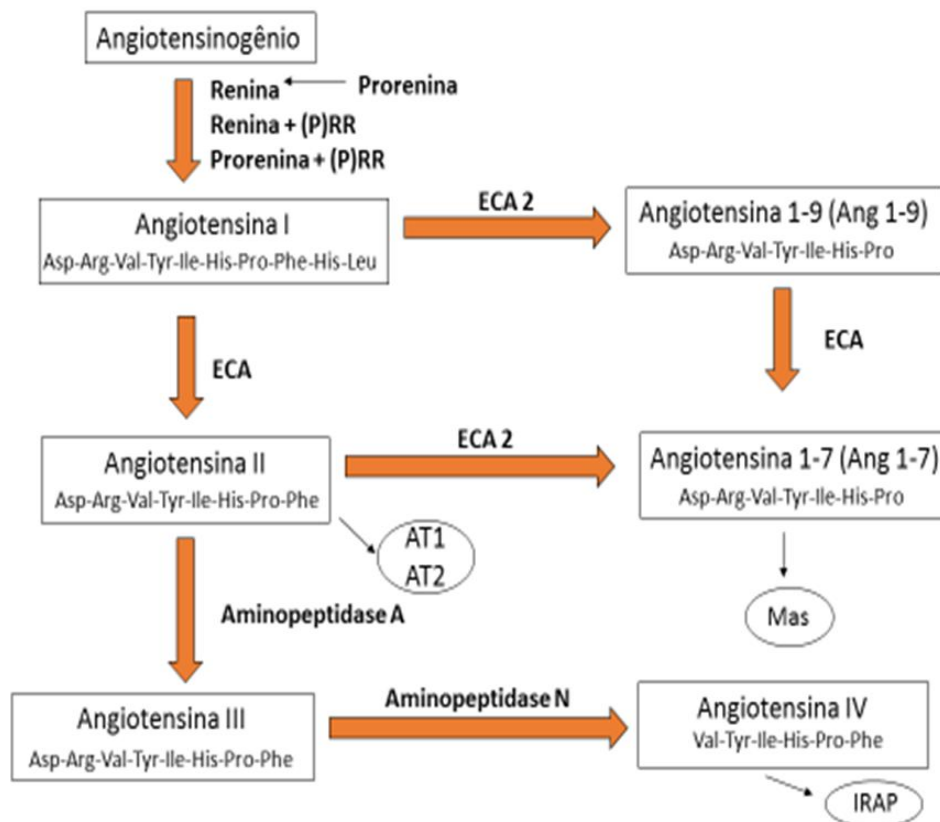
Além disso, estudos mais recentes têm demonstrado outra via para a síntese da angiotensina 1-7, na qual a angiotensina I é hidrolisada pela ECA 2 em angiotensina 1-9 (Figura 1), sendo então convertida em angiotensina 1-7 pela ação da ECA ou da NEP (Rice et al., 2004). O peptídeo angiotensina 1-9, por sua vez, possui ação mediada através da ligação ao receptor AT2 (Flores-Muñoz et al., 2011). Além disso, foi observado que a ação de angiotensina 1-9, via AT2, possui efeito protetor por antagonizar a sinalização de angiotensina II em cardiomiócitos (Flores-Muñoz et al., 2011).

Outros peptídeos derivados da angiotensina II incluem a angiotensina III e a angiotensina IV. A angiotensina III possui ações semelhantes às da angiotensina II e é formada pela angiotensina II a partir da enzima aminopeptidase A (AMPA). Além disso, a angiotensina III possui afinidade pelos receptores AT1 e AT2, tendo como principais efeitos o aumento de pressão arterial, a vasoconstrição e a produção de aldosterona (Reaux et al., 2001). A angiotensina IV é gerada a partir de angiotensina III através da enzima aminopeptidase N (AMPN) e seus efeitos são mediados através do receptor AT1 e AT4, sendo este último, identificado como uma enzima transmembrana aminopeptidase regulada por insulina (IRAP). O peptídeo angiotensina IV parece aumentar o fluxo sanguíneo renal, induzir vasodilatação e melhorar a função cardíaca (Yang et al., 2010).

Outro peptídeo foi descrito por Nagata e colaboradores (2006) sendo chamado de angiotensina 1-12. Esse peptídeo pode ser um substrato alternativo para a produção local de angiotensina, sugerindo uma via não canônica na formação de angiotensinas independente da biotransformação de angiotensinogênio pelas ações da renina (Ahmad et al., 2014; Nagata et al., 2006). Em 2008, Jessup e colaboradores, descreveram pela primeira vez a localização da angiotensina 1-12 em ratos Wistar Kyoto normotensos (WKY) e espontaneamente hipertensos (SHR). Este grupo observou que em ratos SHR a concentração de angiotensina 1-12 em miócitos cardíacos foi superior quando comparada a de ratos WKY. Em contrapartida, nos túbulos renais, a concentração de angiotensina 1-12 foi inferior em animais SHR do

que nos animais WKY, sugerindo que a hipertensão é associada com mudanças na expressão desse peptídeo (Jessup et al., 2008).

Em 2013, Lautner e colaboradores descreveram um novo heptapeptídeo gerado através da angiotensina 1-7, sendo assim chamada de alamandina. Esse grupo observou que o novo heptapeptídeo está presente na circulação humana e produz muitas ações fisiológicas semelhantes às da angiotensina 1-7, incluindo vasodilatação, efeitos anti-fibróticos, anti-hipertensivos e centrais independentes dos receptores Mas e AT2. Interessantemente, esse estudo observou que a alamandina possui suas ações por intermédio do seu próprio receptor que denominaram receptor acoplado à proteína G relacionado ao Mas, membro D (MrgD) (Lautner et al., 2013).



**Figura 1** - Principais peptídeos do sistema renina-angiotensina. Angiotensina II é formada da clivagem subsequente de angiotensinogênio por intermédio da renina em angiotensina I. Esta, por sua vez, mediante ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) converterá angiotensina I em angiotensina II. As ações da angiotensina II são mediadas pelos receptores AT1 e AT2, enquanto fragmentos menores como angiotensina IV e angiotensina 1-7 podem agir via receptor IRAP (ou AT4) e Mas, respectivamente (adaptado de Putnam K.A., 2012).

### 1.5 Sistema renina-angiotensina no tecido adiposo

A produção local de angiotensina II está relacionada com uma variedade de doenças, incluindo hipertensão arterial, aterosclerose e doenças renais. Nos últimos anos, a presença dos componentes do SRA foi proposta nos adipócitos, sugerindo que essas células são fontes dos componentes do SRA (Cassis et al., 2008). Na obesidade, tanto em modelos de roedores induzidos por dieta como os modelos genéticos (*ob/ob* e *db/db*) apresentam aumento da expressão dos componentes do SRA tanto local quanto sistêmico (Boustany et al., 2004; Frederich et al., 1992).

A produção dos componentes do SRA pelos adipócitos é uma área de intenso estudo por muitos pesquisadores e pode ter um papel importante na ligação que existe entre obesidade e doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão. Em 1987, Campbell e Habener observaram pela primeira vez a presença da expressão de RNAm para angiotensinogênio em tecido adiposo marrom periaórtico de ratos (Campbell, Habener, 1987). Logo após, na década de 90, pesquisas em células de humanos, demonstraram a expressão de angiotensinogênio no tecido adiposo em cultura de adipócitos primários (Engeli et al., 1999).

Por essa razão, mais estudos foram surgindo com o enfoque na expressão de angiotensinogênio no tecido adiposo. Gupte e colaboradores observaram que no tecido adiposo abdominal, a expressão de angiotensinogênio está aumentada em ratos hipertensos e obesos induzidos por dieta hiperlipídica e isso pode estar associado com as concentrações elevadas de peptídeos de angiotensina nesse tecido (Gupte et al., 2008). Assim, com o decorrer dos anos, vários grupos de estudo avaliaram a expressão de outros componentes do SRA nos adipócitos, dentre eles, as enzimas renina e ECA; bem como a presença dos receptores de angiotensina II, AT1 e AT2 (Cassis, 2000; Jing et al., 2012).

No tecido adiposo, a angiotensina II regula o crescimento e diferenciação dos adipócitos, o metabolismo lipídico, a expressão e a liberação de adipocinas e componentes do SRA. Matsushita e colaboradores, foram os primeiros a avaliarem os efeitos do SRA nos adipócitos no processo de diferenciação de células-tronco mesenquimais (MSCs) de humanos em adipócitos maduros. Esse estudo demonstrou que a angiotensina II está aumentada nas MSCs e este aumento inibe a sua diferenciação em adipócitos, via ativação do receptor AT2. Por outro lado, a angiotensina II via receptor AT1 pode estimular a adipogênese (Matsushita et al., 2006). Em contrapartida, Sharma e colaboradores demonstraram que a angiotensina



II inibia diretamente a diferenciação de adipócitos *in vitro* via receptor AT1 (Sharma et al., 2002). Ainda, outros estudos envolvendo adipócitos viscerais maduros de humanos e pré-adipócitos diferenciados *in vitro* observaram que a proliferação celular induzida por angiotensina II foi mediada por receptor AT1 (Sarzani et al., 2008).

Além dos clássicos depósitos de gordura, Gálvez-Prieto e colaboradores compararam a expressão dos componentes do SRA no PVAT marrom de aorta torácica e PVAT branco de artéria mesentérica em ratos Wistar. Foi observado que os componentes do SRA são expressos de forma diferente em PVAT branco e marrom, sugerindo que o SRA perivascular pode apresentar papéis diferentes dependendo do tipo de tecido adiposo e do leito vascular. A angiotensina II, por possuir efeitos contráteis e pró-inflamatórios e sendo produzida localmente no PVAT, poderia ter um grande impacto na função vascular e ter um importante papel no desenvolvimento da hipertensão relacionada com a obesidade (Gálvez-Prieto et al., 2008).

As ações pró-inflamatórias da angiotensina II ocorre através da ativação de quimiocinas e também de citocinas pró-inflamatórias. Tsuchiya e colaboradores demonstraram que em pré-adipócitos de tecido adiposo de ratos *in vitro*, o peptídeo angiotensina II aumentou a expressão proteica e de RNAm para MCP-1 através das vias dependentes de NF-kB e receptor AT1. (Tsuchiya et al., 2005). Além disso, Shurk e colaboradores observaram que pela mesma via, a angiotensina II estimula a produção e a liberação de IL-6 e IL-8 em adipócitos humanos diferenciados *in vitro* (Shurk et al., 2004). Diante dessas evidências, a Ang II além de possuir um papel importante na regulação da manutenção da homeostasia da pressão sanguínea e eletrolítica e na alteração das funções vasculares, possui também várias ações no tecido adiposo, como por exemplo, ações pró-inflamatórias que podem contribuir no desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares relacionadas com a obesidade.

## **2 CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos até o momento nos permitem concluir que a obesidade induzida por 16 semanas de dieta hiperlipídica modula o sistema renina-angiotensina no PVAT branco e marrom de maneira diferente.

Embora o papel do sistema renina-angiotensina no PVAT ainda não esteja estabelecido, a expressão aumentada dos receptores AT1 e AT2 de angiotensina II no PVAT do leito mesentérico indica um mecanismo de compensação para contrarregular os efeitos da angiotensina II. Porém, no PVAT marrom, onde a atividade da ECA1 está reduzida, os mecanismos contrarregulatórios do sistema renina-angiotensina parecem não ser ativados.

## REFERÊNCIAS\*

Aghamohammadzadeh R, Withers S, Lynch F, Greenstein A, Malik R, Heagerty A. Perivascular adipose tissue from human systemic and coronary vessels: the emergence of a new pharmacotherapeutic target. *Brit J Pharmac.* 2012;165:670-82.

Ahima RS. Digging deeper into obesity. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2076-9.

Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11:327-32

Ahmad S, Varagic J, Groban L, Dell'Italia LJ, Nagata S, Kon ND, Ferrario CM. Angiotensin (1-12): a chymase-mediated cellular angiotensin II substrate. *Curr Hypertens Rep.* 2014;16:429-36.

Akishita M., Horiuchi M, Yamada H., Zhang L., Shirakachi G, et al. Inflammation influences vascular remodeling through AT2 receptor expression and signaling. *Physiol. Genomics.* 2000;2(1):13-20.

Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, Pepper MS. Adipocyte and adipogenesis. *Europ Journ of Cell Biolog.* 2013;92:229-36.

Batenburg WW, Garrelds IM, Bernasconi CC, Juillerat-Jeanneret L, van Kats JP, et al. Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilatation in human coronary microarteries. *Circulation.* 2004;109:2296-301.

Bhattacharya I, Mundy A, Widmer C, Kretz M, Barton M. Regional heterogeneity of functional changes in conduit arteries after high-fat diet. *Obesity.* 2008;16:743-8.

Berg, AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2005;96:939-49.

Bloor ID & Symonds ME. Sexual dimorphism in white and brown adipose tissue with obesity and inflammation. *Horm Behav.* 2014;66(1):95-03.

Boustany CM, Bharadwaj K, Daugherty A, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. Activation of the systemic and adipose tissue renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287: R943-R9.

Breslow JL. Mouse models of atherosclerosis. *Science.* 1996;272:685-8.

Bruun JM, Pedersen SB, Kristensen K, Richelsen B. Opposite regulation of interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha by weight loss. *Obes Res.* 2002;10(6):499-06.

---

\*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

Burson JM, Aguilera G, Gross KW, Sigmund CD. Differential expression of angiotensin receptor 1A and 1B in mouse. *Am J Physiol.* 1994;267:E260–E7.

Campbell DJ, Habener JF. Cellular localization of angiotensinogen gene expression in brown adipose tissue and mesentery: quantification of messenger ribonucleic acid abundance using hybridization in situ. *Endocrinology.* 1987;121: 1616-26.

Campfield L, Smith F, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science.* 1995;269:546-8.

Cannon B, Nedergaard J. Yes, even human brown fat is on fire! *J Clin Invest.* 2012;122(2):486-9.

Carey RM. Cardiovascular and renal regulation by the angiotensin type 2 receptor: the AT2 receptor comes of age. *Hypertension.* 2005;45:840-4.

Cassis LA, Fetting MJ, Roe AL, Shenoy UR, Howard G. Characterization and regulation of angiotensin II receptor in rat adipose tissue. *Angiotensin receptors in adipose tissue. Adv Exp Med Biol.* 1996;396:39-47.

Cassis LA., Fat cell metabolism: insulin, fatty acids, and renin. *Curr Hypertens Rep.* 2000;2:132-8.

Cassis LA, Police SB, Yiannikouris F, Thatcher SE. Local adipose tissue renin-angiotensin system. *Curr Hypertens Rep.* 2008;10(2):92-8.

Chatterjee TK, Stoll LL, Denning GM, et al. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes influence of high-fat feeding. *Circ Res.* 2009;104:541-9.

Chen X, Li W, Yoshida H, Tsuchida S, Nishimura H, Takemoto F, Okubo S, Fogo A, Matsusaka T, Ichikawa I. Targeting deletion of angiotensin type 1B receptor gene in the mouse. *Am J Physiol.* 1997;272:299-04.

Cook KS, Min HY, Johnson D, et al. Adipsina: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science.* 1987;237(4813):402-5.

Cole BK, Keller SR, Wu R, Carter JD, Nadler JL, Nunemaker CS. Valsartan protects pancreatic islets and adipose tissue from the inflammatory and metabolic consequences of a high-fat diet in mice. *Hypertension.* 2010;55:715-21.

Cosentino F, Eto M, De Paolis P, et al. High glucose causes up-regulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: Role of protein kinase C and reactive oxygen species. *Circulation.* 2003;107(7):1017-23.

Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation.* 2005;111:1448-54.

Dandona P, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Hamouda W, Assian E, Ahmad S. Insulin inhibits intranuclear nuclear factor  $\kappa$ B and stimulates I $\kappa$ B in mononuclear cells in obese subjects: evidence for an anti-inflammatory effect? *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3257-65.

Darimont C, Vassaux G, Ailhaud G, Negrel R. Differentiation of preadipose cell: paracrine role of prostacyclin upon stimulation of adipose cells by angiotensin II. *Endocrinology.* 1995;135:2030-6.

Dinh DT, Frauman AG, Johnston CI, Fabiani ME. Angiotensin receptors: distribution, signaling and function. *Clin Sci (Lond).* 2001;100:481-92.

Dubrovskaja G, Verlohren S, Luft FC, Gollasch M. Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H1107-H113.

Dzau VJ. Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulating.* 1988;77:14-113.

Engeli S, Gorzelniak K, Kreutz R, Runkel N, Distler A, Sharma AM. Co-expression of renin-angiotensin system genes in human adipose tissue. *J Hypertens.* 1999;17:555-60.

Engeli S, Bohnke J, Gorzelniak K, Janke J, Schling P, Bader M, Luft FC, Sharma AM. Weight loss and the renin-angiotensin – aldosterone system. *Hypertension.* 2005;45:356-62.

Fernandez-Alfonso MS, Gil-Ortega M, García-Prieto CF, Aranguéz I, Ruiz-Gayo M, Somoza B. Mechanisms of perivascular adipose tissue dysfunction in obesity. *Int J Endocrin.* 2013;1-8.

Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Science.* 2011;12:3117-32.

Fésus G, Dubrovskaja G, Gorzelniak K, et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovascular Research.* 2007;75(4):719–27.

Finkelstein EA, Trogon JG, Cohen JW, Dietz W. Annual medical spending attributable to obesity: payer and service-specific estimates. *Health Affairs.* 2009;28(5):w822-w31.

Flores-Muñoz M, Smith N, Haggerty C, Milligan G, Nicklin S. Angiotensin 1–9 antagonises pro-hypertrophic signalling in cardiomyocytes via the angiotensin type 2 receptor. *J Physiol.* 2011;589,939–51.

Fonseca MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50(2):216-29.

Fraga-Silva RA, Pinheiro SV, Goncalves AC, Alenina N, Bader M, Santos RA. The antithrombotic effect of angiotensin (1-7) involves mas-mediated NO release from platelets. *Mol Med.* 2008;14:28-35.

Frederich RC Jr, Kahn BB, Peach MJ, Flier JS. Tissue-specific nutritional regulation of angiotensinogen in adipose tissue. *Hypertension*. 1992;19:339-44.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;82:847-50.

Friedman JM, Halaas, JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395:763-70.

Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *J Nutri Biochem*. 2013;24:2003-15.

Gallou-Kabani C, Vigé A, Gross MS, et al. C57BL/6J and A/J Mice Fed a High-Fat diet delineate components of metabolic syndrome. *Obesity*. 2007;15(8):1996-05.

Gálvez-Prieto B, Bolbrinker J, Stuchi P, de las Heras AI, Merino B, Arribas S, Ruiz-Gayo M, Huber M, Wehland M, Kreutz R, Fernandez-Alfonso MS. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. *J of Endocrinol*. 2008;197:55-64.

Galvez-Prieto B, Somoza B, Gil-Ortega M, et al. Anticontractile effect of perivascular adipose tissue and leptin are reduced in hypertension. *Front Pharmacol*. 2012;3(103):1–8.

Gao YJ, Takemori K, Su LY, et al. Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction the role of superoxide anion. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):363-73.

Gao YJ, Holloway AC, Zeng Z, et al. Prenatal exposure to nicotine causes postnatal obesity and altered perivascular adipose tissue function. *Obesity Research*. 2005;13(4):687–92.

Gao YJ. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction. *Curr Pharm Des*. 2007;13:2185-92.

de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*. 2000;52:415-72.

Giacchetti G, Faloi E, Mariniello B, Sardu C, Gatti C, Camilloni MA, Guerrieri M, Mantero F. Overexpression of the renin angiotensin-system in human visceral adipose tissue in normal and overweight subjects. *Am J of Hypertens*. 2002;15:381-8.

Gil-Ortega M, Stucchi P, Guzman-Ruiz R, et al. Adaptive nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. *Endocrinology*. 2010;151(7):3299–06.

Gollash M, Dubrovskaya G. Paracrine role for periadventitial adipose tissue in the regulation of arterial tone. *Trends Pharmacol Sci*. 2004;25:647-53.

Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature reviews*. 2005;5:953-64.

Grady EF, Sechi LA, Griffin CA, Schambelan M, Kalinyak JE. Expression of AT2 receptors in the developing rat fetus. *J Clin Invest*. 1991;88:921-33.

Guha M, Bai W, Nadler JL, et al. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor  $\alpha$  gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress-dependent and independent pathways. *J Biol Chem*. 2000;275(23):17728-39.

Gupte M, Boustany-Kari CM, Bharadwaj K, Police S, Thatcher S, Gong MC, et al. ACE2 is expressed in mouse adipocytes and regulated by a high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295(3):R781–R8.

Gustafson B. Adipose Tissue, Inflammation and Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2010;7(4):332-41.

Henrichot E, Juge-Aubry CE, Pernin A, et al. Production of chemokines by perivascular adipose tissue: a role in the pathogenesis of atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2594–9.

Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, Shirai H, Frank GD, Eguchi S. Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112:417-28.

Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1994;259:87-91.

Houriuchi M, Lehtonen JY, Daviet L. Signaling mechanism of the AT2 angiotensin II receptor: crosstalk between AT1 and AT2 receptors in cell growth. *Trend Endocrinol Metab*. 1999;10:391-6.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/0000000108.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2014.

James WPT. WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J of Obesity*. 2008;32:S120-S216.

Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Mature adipocytes in vitro differentiation of human preadipocytes via angiotensin type 1 receptors. *Diabetes*. 2002;51:1699-707.

Jankowski V, Vanholder R, van der Giet M, et al. Mass-spectrometric identification of a novel angiotensin peptide in human plasma. *Arterioscler Thromb Vas Biol*. 2007;27:297-302.

Jessup JA, Trask AJ, Chappell MC, et al. Localization of the novel angiotensin peptide, angiotensin-(1-12), in heart and kidney of hypertensive and normotensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(6):H2614–8.

Jöhren O, Inagami T, Saavedra JM. AT1A, AT1B, and AT2 angiotensin II receptor subtype gene expression in rat brain. *Neuroreport*. 1995;6:2549–52.

Kanda H, et al. MCP-1 contributes to macrophage accumulation into adipose tissue, insulin resistance and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest*. 2006;116:1494-505.

Kawazoe T, Kosaka H, Yoneyama H, Hata Y. Acute production of vascular superoxide by angiotensin II but not by catecholamines. *J Hypertens*. 2000;18:179-85.

Kiguchi N, Maeda T, Kobayashi Y, Fukazawa Y, Kishioka S. Leptin enhances CC-chemokine ligand expression in cultured murine macrophage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2009;384:311–5.

Kintscher U, Hartge M, Hess K, Foryst-Ludwig A, Clemenz M, Wabitsch M, Fischer-Posovszky P, Barth TFE, Dragun D, Shurk T, Hauner H, Bluher M, Unger T, Wolf AM, Knippschild U, Hombach V, Marx N. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1304-10.

Kobayasi R, Akamine EH, Davel AP, et al. Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice. *J Hypertens*. 2010;28(10):2111-9.

Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine and Growth Factors Reviews*. 2007;18:313-25.

Lautner RQ, Villela DC, Fraga-Silva RA, Silva N, Verano-Braga T, Costa-Fraga F, et al. Discovery and characterization of alamandine: a novel component of the renin-angiotensin system. *Circ Res*. 2013;112:1104-11.

Lee JH, Xia S, Ragolia L. Upregulation of AT2 receptor and iNOS impairs angiotensin II-induced contraction endothelium influence in young normotensive diabetic rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295:144-55.

Leffler M, Hrach T, Stuerzl M, Horch RE, Herndon DN, Jeschke MG. Insulin attenuates apoptosis and exerts anti-inflammatory effects in endotoxemic human macrophages. *J Surg Res*. 2007;143:398-06.

Lemarié CA, Schiffrin EL. The angiotensin II type receptor in cardiovascular disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2010;11:19-31.

Lembo G, Vecchione C, Fratta L, et al. Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes*. 2000;49(2):293-7.



Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International Journal of Obesity*. 2000;24:639-46.

Lu C, Su L, Lee RMKW, Gao Y. Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte derived angiotensin II. *European Journal of Pharmacology*. 2010;634(1-3):107-12.

Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited diet-induced obesity. *Diabetes*. 2007;56:16-23.

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

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

Martinez LL, Oliveira MA, Miguel AS, Rastelli VM, Cruz JW, Tostes RC, Carvalho MH, Nigro D, Fortes ZB. Losartan attenuates the antimigratory effect of diclofenac in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005;46(2):190-9.

Matthew DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28: 412–9.

Matsushita K, Wu Y, Okamoto Y, Pratt RE, Dzau VJ. Local renin angiotensin expression regulates human mesenchymal stem cell differentiation to adipocytes. *Hypertension*. 2006;48:1095-02.

Mavoa HM, McCabe M. Sociocultural factors relating to Tongans' and indigenous Fijians' patterns of eating, physical activity and body size. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17(3):375-84.

Montezano AC, Cat AND, Rios FJ, Touyz RM. Angiotensin II and Vascular Injury. *Curr Hypertens Rep*. 2014;16:431-44.

Muñoz MC, Giani JF, Dominici FP, Turyn D, Tobli JE. Long-term treatment with and angiotensin II receptor blocker decreases adipocyte size and improves insulin signaling in obese Zucker rats. *J of Hypertens*. 2009;27:2409-20.

Nagata S, Kato J, Sasaki K, et al. Isolation and identification of proangiotensin-12, a possible component of the renin-angiotensin system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;350(4):1026–31.

Negrão AB, Licinio J. Leptina: o Diálogo entre Adipócitos e Neurônios. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2000;44(3):205-14.

Nguyen A, Cat D, Touyz RM. A new look at the renin-angiotensin system – focusing on the vascular system. *Peptides*. 2011;32:2141-50.

Niehues JR, Gonzales AI, Lemos RR, Bezerra PP, Haas P. Prevalence of overweight and obesity in children and adolescents from the age range of 2 to 19 years old in Brazil. *Int J Ped*. 2014: 1-7.

Nishimura S, Manable I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8<sup>+</sup> effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nature medicine*. 2009;15(8):914-21.

Okada S, Kozuka C, Masuzaki H, Yasue S, Ishii-Yonemoto T, Tanaka T, Yamamoto Y, Noguchi M, Kusakabe T, Tomita T, Fujukura J, Ebihara K, Hosoda K, Sakaue H, Kobori H, Ham M, Lee YS, Kim JB, Saito Y, Nakao K. Adipose tissue-specific dysregulation of angiotensinogen by oxidative stress in obesity. *Elsevier*. 2010;59:1241-51.

Olshanky SJ, Passaro DJ, Hershov RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21<sup>st</sup> century. *N Engl J Med*. 2005;352(11):1138-45.

Organização Mundial de Saúde. “WHO - World Health Organization. Obesity and Overweight. Disponível em: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/obesity\\_text/en/2008](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/2008)”. Acesso em: 29 jun. 2014.

Organização Mundial de Saúde. “WHO – World Health Organization. Obesity and Overweight. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/2014>”. Acesso em: 29 nov. 2015.

Organização Mundial de Saúde. “WHO-World Health Organization. Body mass index (BMI) classification. Disponível em: [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html/2004](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html/2004). Acesso em: 28 jun.2014.

Osborn O, Olefsky J. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature medicine*. 2012;18:363-74.

Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews*. 2011;11:85-97.

Ouchi N, Kihara S., Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14:561-6.

Park YS, Kim JS. Obesity phenotype and coronary heart disease risk as estimated by the Framingham risk score. *J Korean Med Sci*. 2012;27:243-9.

Passos-Silva DG, Verano-Braga T, Santos RA. Angiotensin (1-7): beyond the cardiovascular actions. *Clinical Science*. 2013;124:443-56.

Police SB, Thatcher SE, Charnigo R, Daughtery A, Cassis LA. Obesity promotes inflammation in periaortic adipose tissue and angiotensin II – induced abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:1458-64.

Proença ARG, Sertié RAL, Oliveira AC, Campaña AB, Caminhotto RO, Chimin P, Lima FB. New concepts in white adipose tissue physiology. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(3):192-05.

Rahmouni K, Mark AL, Haynes WG, Sigmund CD. Adipose depot-specific modulation of angiotensinogen gene expression in diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286:E891-E5.

Rajsheker S, Manka D, Blomkalns AL, Chatterjee TK, Stoll LL, Weintraub NL. Crosstalk between perivascular adipose tissue and blood vessels. *Current Opinion in Pharmacology.* 2010;10:191-6.

Reaux A, Fournie-Zaluski MC, Llorens-Cortes C. Angiotensin III: a central regulator of vasopressin release and blood pressure. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 2011;12(4):157-62.

Rice GI, Thomas DA, Grant PJ, et al. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ECA)1 its homologue ECA2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *The Biochemical Journal.* 2004;338:45-51.

Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature Reviews.* 2006;444(14):847-53.

Ryo M, Nakamura T, Kihara S, et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J.* 2004;68:975-81.

Sanjuliani AF, Torres MRSG, Paula LN, Bassan FB. Eixo renina-angiotensina-aldosterona: bases fisiológicas e fisiopatológicas. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto.* 2010;10:20-30.

Santos RA, Brosnihan KB, Chappel MC, et al. Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem. *Hypertension.* 1988;11:153-7.

Santos RA, Campagnole-Santos MJ, Andrade SP. Angiotensin (1-7): an update. *Regulatory Peptide.* 2000;91(1-3):45-62.

Santos RA, Ferreira AJ, Pinheiro SV, Sampaio WO, Touyz R, Campagnole-Santos MJ. Angiotensin (1-7) and its receptor as a potential targets for new cardiovascular drugs. *Expert Opin Investg Drugs.* 2005;14:1019-31.

Santos SH, Braga JF, Mario EG, Porto LC, Rodrigues-Machado G, Murari A, et al. Improved lipid and glucose metabolism in transgenic rats with increased circulating angiotensin (1-7). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:953-61.

Santos SH, Fernandes LR, Pereira CS, Guimaraes AL, de Paula AM, Campagnole-Santos MJ, et al. Increased circulating angiotensin (1-7) protects white adipose tissue against development of a proinflammatory state stimulated by a high fat diet. *Regul Pept.* 2012;178:64-70.

Santos-Alvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cellular Immunology.* 1999;194:6–11.

Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:7265-70.

Sarzani R, Marcucci P, Salvi F, Bordichchia M, Espinosa E, Mucci L, Lorenzetti B, Minardi D, Muzzonigro G, Dessì-Fulgheri P, Rappelli A. Angiotensin II stimulates and atrial natriuretic peptide inhibits human visceral adipocyte growth. *International Journal of Obesity.* 2008;32:259-67.

Sato A, Kawano H, Notsu T, Ohta M, Nakakuki M, Mizuguchi K, Itoh M, Suganami T, Ogawa Y. Antiobesity effect of eicosapentaenoic acid in high-fat/high sucrose diet-induced obesity. *Diabetes.* 2010;(59):2495-04.

Shurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1023-33.

Shurk T, van Harmelen V, Hauner H. Angiotensin II stimulates the release of interleukin-6 and interleukin-8 from cultured human adipocytes by activation of NF- $\kappa$ B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1199-03.

Soltis E, Cassis LA. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clin Exp Hypertens.* 1991;13:277-96.

de Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, Saad MJA, Velloso LA. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology.* 2005;146(10):4192-9.

Spoto B, Di Betta E, Mattace-Raso F, Sijbrands E, Vilardi A, Parlongo RM, Pizzini P, Pisano A, Vermi W, Testa A, Cutrupi S, D'Arrigo G, Lonardi S, Tripepi G, Cancarini G, Zoccali C. Pro and anti-inflammatory cytokine gene expression in subcutaneous and visceral fat in severe obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;(10):1137-43.

Touyz RM, Yao G, Viel E, Amiri F, Schiffrin EL. Angiotensin II and endothelin-1 regulate MAP kinases through different redox-dependent mechanisms in human vascular smooth muscle cells. *J Hypertens.* 2004;22:1141-9.

Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004;92(3):347-55.

Trayhurn P. The biology of obesity. *Proc Nutr Soc.* 2005;64(1):31-8.

Tsuchiya K, Yoshimoto T, Hirono Y, Tateno T, Sugiyama T, Hirata Y. Angiotensin II induces monocyte chemoattractant protein-1 expression via nuclear factor k-B dependent pathway in rat preadipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291:E771-E8.

Underwood PC, Adler GK. The renin angiotensin aldosterone system and insulin resistance in humans. *Curr Hypertens Rep.* 2013;15:59-70.

Unger T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. *J Hypertens.* 1999;17:1775-86.

van der Heidjen RA, Sheedfar F, Morrison MC, Hommelberg PPH, Kor D, Kloosterhuis NJ, Gruben N, Youssef SA, de Bruin A, Hoofker MH, Kleemann R, Koonen DPY, Heeringa P. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging.* 2015;(7):256-67.

van Stijn CMW, Kim J, Barish GD, Tietge UJF, Tangirala RK. Adiponectin expression protects against angiotensin II mediated inflammation and accelerated atherosclerosis. *Plos One.* 2014;9:1-13.

Vásquez-Vela FME, Torres N, Tovar AR. White adipose tissue as an endocrine organ and its role in obesity. *Elsevier.* 2008;39:715-28.

Velloso LA, Folli F, Sun XJ, White MF, Saad MJ, Kahn CR. Cross-talk between the insulin and angiotensin signaling systems. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:12490-6.

Velloso LA, Folli F, Perego L, Saad MJ. The multifaceted cross talk between the insulin and angiotensin II signaling systems. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006;22:98-07.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA.* 1999;282:2131-5.

Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004;27:1487-95.

Wang CY, Liao JK. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. *Methods Mol Biol.* 2012;821:421-33.

Wang Y, Jacobs EJ, Patel AV, et al. A prospective study of waist circumference and body mass index in relation to colorectal cancer incidence. *Cancer Cause Control.* 2008;19(7):783-92.

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J of Clin Inv.* 2003;112:1796-08.

Yang R, Walther T, Gembardt F, Smolders I, Vanderheyden P, Albiston AL, et al. Renal vasoconstrictor and pressor responses to angiotensin IV in mice are AT1a-receptor mediated. *J Hypertens.* 2010;28(3):487-94.

Yano M, Hasegawa G, Ishii M, et al. Short-term exposure of high glucose concentration generation of reactive oxygen species in endothelial cells: Implication for the oxidative stress associated with postprandial hyperglycemia. *Redox Rep.* 2004;9(2):111-6.

Yao L, Heuser-Baker J, Herlea-Pana O, Zhang N, Szweda LI, Griffin TM, Barlic-Dicen J. Deficiency in adipocyte chemokine receptor CXCR4 exacerbates obesity and compromises thermoregulatory responses of brown adipose tissue in a mouse model of diet-induced obesity. *The FASEB J.* 2014;28(10):4534-50.

Yiannikouris F, Gupte M, Putnam K, Thatcher S, Charnigo R, Rateri DL, Daugherty A, Cassis LA. Adipocyte deficiency of angiotensinogen prevents obesity-induced hypertension in male mice. *Hypertension.* 2012;60:1524-30.

Zhang YY, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. *Nature.* 1994;372:425–32.

Zhao Y, Liu J, Li L, Liu L, Wu L. Role of Ras/Pkc $\zeta$ /MEK/ERK1/2 signaling pathway in angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Regul Pept.* 2005;128:43-50.

Zhou Y, Chen Y, Dirksen WP, Morris M, Periasamy M. AT1b receptor predominantly mediates contraction in major mouse blood vessels. *Circ Res.* 2003;93:1089-94.

Zhou Y, Dirksen WP, Chen Y, Morris M, Zweier JL, Periasamy M. A major role for AT1b receptor in mouse mesenteric resistance vessels and its distribution in heart and neuroendocrine tissues. *J of Mol and Cell Card.* 2005;368:693-6.

Zraika S, Dunlop M, Proietto J, Andrikopoulos S. Effects of free fatty acids on insulin secretion in obesity. *The International Association for the Study of Obesity.* 2002;3:103-12.