

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB

WALKÍRIA WINGESTER VILAS BOAS

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (SRA) E CIRROSE HEPÁTICA

Belo Horizonte

2007

WALKÍRIA WINGESTER VILAS BOAS

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (SRA) E CIRROSE HEPÁTICA

Tese apresentada ao Departamento de Pós-graduação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Fisiologia

Orientador: **Prof.Dr. Robson Augusto S. Santos**

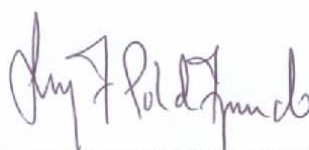
Belo Horizonte

2007

SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA (SRA) E CIRROSE HEPÁTICA

WALKIRIA WINGESTER VILAS BOAS

Tese de Doutorado defendida e aprovada no dia 02 de outubro de 2007, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



PROF. DR. LUIZ FRANCISCO POLI DE FIGUEIREDO
UNIFESP



PROFA. DRA. MARIA HELENA CAPELLI DE CARVALHO
USP



PROFA. DRA. ANA CRISTINA SIMÕES E SILVA
FM/UFMG



PROFA. DRA. MARIA JOSÉ CAMPAGNOLE DOS SANTOS
ICB/UFMG



PROF. DR. ROBSON AUGUSTO SOUZA DOS SANTOS
ICB/UFMG, ORIENTADOR

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Fisiologia e Farmacologia
Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Belo Horizonte, 02 de outubro de 2007.

A meu vizinho, Carlos Wingester.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho com idéias, dados, sugestões, orientações, apoio, especialmente ao meu orientador, Prof. Dr. Robson Augusto S. Santos. Não as nomearei porque elas sabem quem são e eu as tenho no meu reconhecimento.

RESUMO

Hipertensão porta e circulação hiperdinâmica representam a disfunção circulatória da cirrose hepática. A homeostase hemodinâmica é uma das grandes funções do SRA, que atualmente tem dois eixos: ECA/AngII/AT1 (vasoconstritor) e ECA2/Ang1-7/Mas (vasodilatador). Eles se contrabalançam, determinando a função final. Avaliou-se o perfil plasmático dos dois eixos do SRA nas fases pré-ascítica (compensados) e ascítica (descompensados) da cirrose hepática, sua possível participação na disfunção circulatória dos pacientes cirróticos e o efeito do uso crônico do propranolol oral no perfil plasmático do SRA esplâncnico e sistêmico de pacientes cirróticos descompensados e na sua hemodinâmica sistêmica. **Métodos:** controles hígidos, cirróticos compensados e descompensados foram estudados. Inicialmente, amostras de sangue venoso periférico foram obtidas para determinar o nível plasmático dos componentes do SRA (ARP, AngI, AngII, Ang1-7) nos pacientes-controle e cirróticos compensados e descompensados usando ou não propranolol oral. A seguir, durante fase pré-anepática da cirurgia para transplante de fígado em pacientes cirróticos descompensados que usavam ou não propranolol oral, medidas hemodinâmicas (DC, IC, RVS IRVS) foram realizadas e sangue foi obtido simultaneamente da veia porta e artéria radial para determinação dos componentes do SRA. **Resultados:** ARP ($p<0,001$) e AngI ($p<0,01$) estavam aumentadas apenas nos pacientes cirróticos descompensados. AngII estava aumentada nos cirróticos descompensados ($p<0,05$) e reduzida nos cirróticos compensados ($p<0,05$) em relação aos controles. Ang1-7 estava aumentada nos pacientes cirróticos descompensados em relação aos controles ($p<0,01$) e em relação aos pacientes cirróticos compensados ($p<0,05$). A relação funcional final do SRA (Ang1-7/AngII) estava aumentada nos pacientes cirróticos compensados em relação aos controles ($p<0,001$) e em relação aos cirróticos descompensados ($p<0,01$). Na comparação do perfil plasmático do SRA esplâncnico e periférico dos pacientes cirróticos descompensados houve redução de AngII ($p<0,05$) na circulação esplâncnica, determinando elevação na relação funcional final do SRA (Ang1-7/AngII) ($p<0,05$) na circulação esplâncnica em relação à circulação periférica. As medidas hemodinâmicas dos pacientes cirróticos mostraram DC e IC elevados e RVS e IRVS reduzidos. O uso de propranolol por esses pacientes reduziu o DC ($p<0,05$) e IC ($p<0,05$) e elevou a RVS ($p<0,05$) e IRVS ($p<0,05$). Pacientes cirróticos descompensados apresentaram correlação positiva ($r=0,66$) entre a relação funcional final do SRA (Ang1-7/AngII) da artéria radial e o DC. E também correlação negativa ($r=-0,70$) entre a relação funcional final do SRA na artéria radial e a RVS. Pacientes cirróticos descompensados usando propranolol oral mostraram redução dos componentes dos eixos do SRA na circulação esplâncnica [ARP ($p<0,05$), AngI ($p<0,050$), AngII ($p<0,05$), Ang1-7 ($p<0,05$)] e periférica [ARP ($p<0,05$), AngI ($p<0,05$), AngII ($p<0,05$)], mas sem alteração na relação funcional final do SRA plasmático esplâncnico (v. porta) e periférico (a. radial). **Conclusões:** o SRA plasmático periférico só se ativa na fase descompensada da cirrose hepática, mas na fase compensada há provável inversão do eixo predominante do SRA para aquele vasodilatador (ECA2/Ang1-7/Mas). Na fase descompensada da cirrose o produto funcional final do SRA plasmático esplâncnico é vasodilatador em relação à circulação periférica. E a relação funcional final do SRA periférico é importante na manutenção do tônus vascular sistêmico e DC. O uso do propranolol oral pelos pacientes cirróticos descompensados reduz o nível de ativação (ARP, AngI) do SRA e seus peptídeos biologicamente ativos (AngII, Ang1-7), mas não altera sua relação funcional final (Ang1-7/AngII), tanto na circulação esplâncnica quanto periférica. Entretanto, a circulação hiperdinâmica é tratada pelo uso do propranolol, provavelmente pelo seu efeito β -bloqueador não seletivo, e não pela sua inibição do SRA.

Palavras-chave: Cirrose hepática. Propranolol. Sistema renina angiotensina. Circulação hiperdinâmica.

ABSTRACT

Portal hypertension and hyperdynamic circulation represent altogether circulatory impairment of hepatic cirrhosis. Haemodynamic homeostasis is one of the major functions of RAS, that nowadays has two recognized axis: ACE/AngII/AT1 (vasoconstrictor) and ACE/Ang1-7/Mas (vasodilator). They counteract each other, determining the final function. The plasmatic profile of both RAS axis were evaluated in pre-ascites (compensated) and ascites (non-compensated) phases of hepatic cirrhosis as well as its possible participation in the circulatory impairment of cirrhotic patients. The effect of oral propranolol chronic use over the plasmatic profile of RAS (splanchnic and systemic) and the haemodynamics of non-compensated cirrhotic patients was observed. **Methods:** Healthy individuals (control group), and compensated and non-compensated cirrhotic patients were studied. At first, peripheral venous blood samples were collected to determine RAS components plasmatic levels (RPA, AngI, AngII, Ang1-7) in control group and compensated and non-compensated cirrhotic patients, taking or not oral propranolol. Later on, during preanhepatic stage of hepatic transplantation over non-compensated cirrhotic taking or not oral propranolol, haemodynamic parameters (CO, CI, SVR, SVRI) were measured and blood samples were simultaneously obtained from the portal vein and radial artery to measure RAS components. **Results:** RPA ($p < 0,001$) and AngI ($p < 0,01$) were augmented only in non-compensated cirrhotic. AngII was augmented in cirrhotic non-compensated ($p < 0,05$) and reduced in cirrhotic compensated ($p < 0,05$) compared to control. Ang1-7 was augmented in cirrhotic non-compensated compared to control ($p < 0,01$) and to compensated patients ($p < 0,05$). The final functional relation of RAS (Angio1-7/AngII) was augmented in cirrhotic compensated patients related to control ($p < 0,01$) and cirrhotic non-compensated. Related to RAS splanchnic and systemic plasmatic profile in non-compensated cirrhotics, there was a reduction of AngII ($p < 0,05$) and elevation of Angio1-7/AngII relation ($p < 0,05$) in the splanchnic circulation by comparison with systemic circulation. Haemodynamic parameters of cirrhotic patients showed elevated CO and CI, and reduced SVR and SVRI. Propranolol chronic intake by these patients reduced CO ($p < 0,05$) and CI ($p < 0,05$) and elevated SVR ($p < 0,05$) and ISVR ($p < 0,05$). Cirrhotic non-compensated patients showed positive correlation ($r = 0,66$) between RAS final functional relation (Ang1-7/AngII) of radial artery and CO. Negative correlation was observed ($r = -0,7$) between RAS final functional relation in radial artery and SVR. Non-compensated cirrhotic patients taking propranolol showed reduction of measured RAS components in the splanchnic circulation [RPA ($p < 0,05$), AngI ($p < 0,05$), AngII ($p < 0,05$), Ang1-7 ($p < 0,05$)] and systemic circulation [RPA ($p < 0,05$), AngI ($p < 0,05$), AngII ($p < 0,05$)], but without alteration in RAS final functional relation splanchnic (portal vein) and peripheral. **Conclusions:** The plasmatic peripheral RAS is only activated during the non-compensated phase of hepatic cirrhosis. During the compensated phase there is probably inversion of predominant RAS axis toward the vasodilator (ACE/Ang1-7/Mas). During the non-compensated phase the plasmatic splanchnic RAS final functional product is vasodilator in relation to the peripheral circulation. The peripheral RAS final functional relation is important in maintenance of systemic vascular tonus and cardiac output. Propranolol oral intake by cirrhotic non-compensated patients reduces the activation level (RPA, AngI) of RAS and its biological active peptides (AngII, Ang1-7), but do not alter its final functional relation (Ang1-7/AngII) either in the splanchnic circulation or in the peripheral circulation. However, hyperdynamic circulation is treated by propranolol use, probably due to the non-selective beta-blockade effect and not by inhibition of the RAS.

Key-words: Hepatic cirrhosis. Propranolol. Renin-angiotensin system. Hyperdynamic circulation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ACTH	Hormônio corticotrófico
ADH	Hormônio antidiurético
AMP	Aminopectidase
Ang	Angiotensina
ARP	Atividade de renina plasmática
AT ₁	Receptor de angiotensina 1
AT ₂	Receptor de angiotensina 2
AT ₄	Receptor de angiotensina 4
ATP	Adenosina trifosfato
BSA	Albumina de soro bovino
B ₂	Receptor de Bradicinina
CAM	Concentração alveolar mínima
CB ₁	Receptor canabinoide 1
CB ₂	Receptor canabinoide 2
CBP	Carboxipeptidases
CK2	Caseína quinase 2
COX	Ciclo-oxigenase
cpm	Contagem por minuto
D-AMP	Dipeptidil-aminopectidase
DC	Débito cardíaco
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECA ₂	Enzima conversora de angiotensina 2
ECG	Eletrocardiograma
EDCF	Fator de contração derivado do endotélio
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
EDRF	Fator de relaxamento derivado do endotélio
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
eNOS	Óxido nítrico sintase constitutivo
ERK	Quinases reguladas por sinal extracelular
ET	Endotelina

EUA	Estados Unidos da América
HFBA	Heptafluobutírico
HVPG	Gradiente de pressão venosa hepática
¹²⁵ I	Iodo radioativo 125
IC	Índice cardíaco
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IRVS	Índice de resistência vascular sistêmica
JNK	Quinase NH2 terminal c-Jun
LH	Hormônio luteotrófico
M6P	Manose-6-fosfato
MAP	Quinase proteínas mitógenos ativadas
MELD	Modelo para doença hepática em estágio final
MeOH	Metanol
MKK7	Quinase quinase 7 proteína mitógeno ativada
NaCl	Coreto de sódio
NEP	Endopeptidase neural
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
PAM	Pressão arteial média
PAP	Pressão de artéria pulmonar
PCP	Prolil-carboxipeptidase
PWAP	Pressão encunhada de artéria pulmonar
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PELD	Modelo pediátrico para doença hepática em estágio final
PEP	Prolil-endopeptidase
PG	Prostaglandinas
PGI ₂	Prostaciclina
PMSF	Para-metilsulfonil fluoreto
pOHHgBz	Para-hidroximercúrio-benzoato
CVP	Pressão venosa central
RFG	Ritmo de filtração glomerular
RIE	Radioimunoensaio

RNA _m	Ácido ribonucléico mensageiro
ROS	Espécies de oxigênio reativo
rpm	Rotações por minuto
RSV	Resistência vascular sistêmica
SHR	Síndrome hepatorenal
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina-angiotensina
SRA-A	Sistema renina-angiotensina aldosterona
SvO ₂	Saturação venosa mista
TGF- β_1	Fator de crescimento e transformação do tipo beta 1
TPS	<i>Shunts</i> portosistêmicos
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1 – Mudanças hemodinâmicas nas fases clínicas da cirrose hepática.....	22
Figura 2 - Patogênese da circulação hiperdinâmica na cirrose (estágio inicial).....	29
Figura 3 - Patogênese da circulação hiperdinâmica da cirrose (estágio II tadio).....	30
Figura 4 - Fluxo sanguíneo esplâncnico e sistêmico normal e do cirrótico...	31
Figura 5 - Modulação do tônus e estrutura da célula muscular lisa vascular pelo endotélio.....	37
Figura 6 - Vias proteolíticas para formação das angiotensinas.....	43
Figura 7 - SRA atual.....	44
Figura 8 - SRA atual simplificado.....	45
Figura 9 - Fenômeno <i>outside-in</i> da ECA.....	48
Figura 10 - Receptores de angiotensinas.....	51
Figura 11 - Interação da bradicinina e Ang-(1-7).....	56
Figura 12 - SRA cardíaco.....	58

Gráficos

Gráfico 1 - ARP periférica nas fases clínicas da cirrose.....	79
Gráfico 2 - ANG I plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.....	80
Gráfico 3 - ANG II plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.....	81
Gráfico 4 - ANG1-7 plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.....	81
Gráfico 5 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.....	82
Gráfico 6 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.....	83
Gráfico 7 - Relação ANGII/ANGI plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose hepática.....	83
Gráfico 8 -ARP da veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados	84

Gráfico 9 - ANG I plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	85
Gráfico 10 - ANG1-7 plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	86
Gráfico 11 - ANGII plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	86
Gráfico 12 - Relação ANG1-7/ANGII na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	87
Gráfico 13 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	87
Gráfico 14 - Relação ANGII/ANGI na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.....	88
Gráfico 15 - Correlação entre a relação ANG1-7/ANGII plasmática na artéria radial e débito cardíaco de cirróticos descompensados.....	89
Gráfico 16 - Correlação entre a relação plasmática ANG1-7/ANGII na artéria radial e resistência vascular sistêmica de cirróticos descompensados.	90
Gráfico 17 - Atividade de renina plasmática na veia porta de pacientes cirróticos descompensados em uso ou não de propranolol.....	91
Gráfico 18 - ANG I plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	91
Gráfico 19 - ANG1-7 plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	92
Gráfico 20 - ANG II plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	92
Gráfico 21 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática na veia porta de cirróticos usando ou não propranolol.....	93
Gráfico 22 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática na veia porta de cirróticos descompensados.....	93
Gráfico 23 - Relação ANGII/ANGI plasmática na veia porta de cirróticos usando ou não propranolol.....	94
Gráfico 24 - Débito cardíaco (DC) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	95

Gráfico 25 - Índice cardíaco (IC) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	95
Gráfico 26 - Resistência vascular sistêmica (RVS) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	96
Gráfico 27 - Índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	96
Gráfico 28 - Atividade de renina plasmática (ARP) sistêmica, circulante, em pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	97
Gráfico 29 - ANG I plasmática, sistêmica, circulante, em pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	98
Gráfico 30 - ANG II plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	98
Gráfico 31 - ANG1-7 plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	99
Gráfico 32 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática, sistêmica, circulante de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	100
Gráfico 33 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados.....	100
Gráfico 34 - Relação ANGII/ANGI sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.....	101
Gráfico 35 - SRA plasmático, periférico <i>versus</i> fases da cirrose hepática <i>versus</i> hemodinâmica.....	108
Gráfico 36 - Alterações cardiocirculatórias e SRA plasmático na cirrose hepática.....	115
Quadro	
Quadro 1 - Substratos da ECA2.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de Child-Pugh de gravidade da doença hepática...	20
Tabela 2 - Cálculo do escore MELD.....	20
Tabela 3 - A: Pacientes ambulatoriais: dados gerais, B: Pacientes cirróticos: dados laboratoriais.....	69
Tabela 4 - Pacientes cirróticos descompensados, sob transplante hepático, com ou sem propranolol: dados gerais.....	70
Tabela 5 - SRA plasmático periférico dos pacientes cirróticos ambulatoriais	84
Tabela 6 - SRA local e sistêmico de cirróticos descompensados, sob transplante hepático.....	88
Tabela 7 - Variáveis hemodinâmicas de pacientes cirróticos sob transplante sem propranolol.....	89
Tabela 8 - Efeito do uso de propranolol oral no SRA da circulação esplâncnica de cirróticos descompensados.....	94
Tabela 9 - Efeito hemodinâmico sistêmico do uso de propranolol oral em cirróticos descompensados.....	97
Tabela 10 - Efeito do propranolol no SRA periférico de cirróticos descompensados.....	101

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Sistema cardiovascular e cirrose.....	24
1.1.1 Cardiomiopatia cirrótica.....	24
1.1.2 Disfunção circulatória (hipertensão porta e circulação hiperdinâmica) na cirrose hepática.....	26
1.1.2.1 Disfunção renal da cirrose hepática.....	32
1.1.3 Papel do endotélio vascular.....	35
1.2 SRA.....	41
1.2.1 Vias proteolíticas do SRA.....	43
1.2.2 Pró-renina e renina.....	45
1.2.3 ECA E ECA2.....	46
1.2.4 N-ACETIL-SER-ASP-LYS-PRO (AC-SDKP).....	50
1.2.5 Quimase.....	51
1.2.6 Receptores de angiotensinas.....	51
1.2.7 Angiotensinas biologicamente ativas.....	53
1.2.8 SRA cardíaco.....	57
1.2.8.1 Funções do SRA cardíaco.....	59
1.2.9 SRA vascular.....	61
1.2.9.1 Funções do SRA vascular.....	62
1.3 SRA e cirrose.....	63
2 OBJETIVOS.....	66
2.1 Objetivo geral.....	66
2.2 Objetivos específicos.....	66
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	67
3.1 Pacientes.....	67
3.1.1 Procedência.....	67
3.1.2 Critérios de exclusão.....	67
3.1.3 Grupos observacionais.....	67
3.2 Protocolo geral do estudo.....	69

3.3 Métodos.....	71
3.3.1 Equipamentos utilizados.....	71
3.3.2 Drogas e reagents.....	72
3.3.3 Ensaio bioquímicos.....	73
3.3.3.1 Radioimunoensaio (RIE).....	73
3.3.3.1.1 Protocolo geral dos RIEs.....	73
3.3.3.1.2 Radioimunoensaio para angiotensina I.....	75
3.3.3.1.3 Radioimunoensaio para angiotensina II.....	76
3.3.3.1.4 Radioimunoensaio para angiotensina - (1-7).....	77
3.3.3.1.5 Ensaio da enzima renina (ARP).....	78
3.4 Análise estatística.....	78
4 RESULTADOS.....	79
4.1 Resultados do perfil plasmático sistêmico do SRA dos pacientes cirróticos ambulatoriais.....	79
4.2 Resultados do perfil plasmático sistêmico e local (esplâncnico) do SRA dos pacientes cirróticos descompensados durante a fase pré-anepática do transplante hepático.....	84
4.3 Resultados do perfil plasmático do SRA na veia porta e variáveis hemodinâmicas dos pacientes descompensados sob transplante, usando ou não propranolol.....	90
4.4 Resultados do perfil plasmático sistêmico dos pacientes cirróticos descompensados ambulatoriais em uso ou não de propranolol.....	97
5 DISCUSSÃO.....	102
5.1 Perfil plasmático sistêmico do SRA nos pacientes cirróticos compensados e descompensados.....	102
5.2 Perfil plasmático do SRA periférico e esplâncnico nos pacientes cirróticos descompensados sob transplante hepático.....	108
5.3 Efeito do uso crônico de propranolol no perfil plasmático do SRA na veia porta e nos parâmetros hemodinâmicos de pacientes cirróticos descompensados sob transplante.....	111
5.4 Efeito do uso crônico de propranolol no perfil plasmático periférico do SRA de pacientes cirróticos descompensados.....	113

6 RESUMO DOS RESULTADOS E DISCUSSÃO (GRAF. 35, 36).....	116
7 CONCLUSÕES.....	120
REFERÊNCIAS.....	121
ANEXO E APÊNDICE.....	136

1 INTRODUÇÃO

A avaliação do sistema renina-angiotensina atual (SRA) não deve focar apenas o eixo clássico, mais antigo, ou seja: o angiotensinogênio sofre a ação da renina e produz angiotensina I (AngI) que, sob a ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), produz angiotensina II (AngII); esta vai exercer sua ação em receptor AT1 e AT2. Nesse eixo, a AngII, potente vasoconstritor endógeno, é o peptídeo biologicamente ativo e a ECA é vista como um modulador central do sistema. Os dados atuais mostram que esse eixo é apenas uma das duas direções do SRA. O segundo eixo é também iniciado pelo angiotensinogênio, mas é seguido pela hidrólise da Ang I para angiotensina-(1-9) (Ang1-9) por meio da ação catalítica da mono-peptidase denominada enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). A Ang1-9 sofre a ação da ECA, gerando angiotensina-(1-7) - (Ang1-7), o peptídeo biologicamente ativo dessa via e vasodilatador. A Ang1-7 pode também ser gerada diretamente de AngI por outras endopeptidases que não as ECA2 e ECA. Interligando os dois eixos do SRA está a ECA2, que hidrolisa a AngII, produzindo Ang1-7.

A eficiência catalítica da ECA2 é 400 vezes maior com AngII como substrato do que com a Ang I (CAREY; SIRAGY, 2003). A descoberta de Ang1-7 e ECA2 mostrando nova direção do SRA amplia o conhecimento e a percepção de como esse importante sistema trabalha (BOEHM; NABEL, 2002; PAGLIARO; PENNA, 2005; SANTOS; FERREIRA, 2007).

Acredita-se que esse segundo eixo do SRA é um contra-regulador do primeiro. A geração do vasodilatador Ang1-7 através da ECA2 contrabalança o efeito vasopressor da AngII gerada pela ação da ECA. Provavelmente, sob condições fisiológicas, um fino equilíbrio existe entre os dois eixos do SRA, mantendo o tônus dos vasos sanguíneos resultando em normotensão. Qualquer desequilíbrio entre os dois eixos do sistema, como resultado de algum processo patológico, pode resultar em hipertensão ou hipotensão.

Não está clara ainda a contribuição relativa *in vivo* da segunda via metabólica de AngI em condições hemodinâmicas fisiológicas e patológicas. Qual proporção da AngI em seres humanos é direcionada para cada eixo do SRA ainda é desconhecida. A potência do efeito vasodilatador da Ang1-7 em relação

ao efeito vasoconstritor da AngII em seres humanos também não está estabelecida. Mas é certo que se está frente a um sistema dual contra-regulador que permite inibição e estimulação de um mesmo órgão efector, possibilitando equilíbrio entre duas forças opostas e favorecendo a homeostase. Uma abordagem prática pode se comparar à razão das angiotensinas quando medidas *in vivo* e *in vitro*. Assim, quanto maior a razão Ang1-7/AngII ou Ang1-7/AngI, mais forte Ang1-7 antagoniza AngII ou maior é sua produção a partir de AngI. E a medida de Ang1-7 pode ser considerada uma medida indireta dos níveis e atividade da ECA2, uma vez que ela é seu produto efector (ROKS *et al.*, 1999).

E, ainda, baseado no encontro de componentes do SRA em lugares incomuns (tal como renina no cérebro) onde ações endócrinas do sistema não poderiam explicar os achados, introduziu-se o conceito de SRA tecidual ou local (CAREY; SIRAGY, 2003; DZAU; RE, 1994). Os genes para todos os componentes do SRA têm sido clonados e estudos da expressão gênica puderam verificar a regulação de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) desses genes em muitos tecidos, demonstrando a possibilidade de síntese local de AngII. É sabido também que esses sistemas locais não são entidades isoladas, mas podem interagir com o SRA endócrino bem como com outros sistemas peptídeos em múltiplos níveis (SCHIFFRIN, 2005), podendo participar ativamente da fisiologia e fisiopatologia de vários órgãos, não apenas coração, vasos sanguíneos e rins (PAUL; MEHR; KRUTZ, 2006).

Portanto, atualmente, quando se objetiva o SRA, deve-se considerar não apenas o eixo tradicional mediado pela ECA/AngII, mas também o segundo eixo mais recente, mediado pela ECA2/Ang1-7, e a relação entre os dois. Esse segundo eixo esclarece muitas dúvidas sobre a fisiopatologia da regulação hemodinâmica e abre novas possibilidades terapêuticas. É preciso lembrar-se da possibilidade de inter-relação entre os SRAs teciduais e circulantes e que o SRA, além de participar da regulação hemodinâmica, exerce outras importantes e potentes ações no organismo.

A cirrose hepática é definida como a fibrose do parênquima hepático resultando na formação de nódulos. Representa as conseqüências de uma resposta cicatrizante a uma lesão hepática de causas variadas. Suas seqüelas ocorrem em múltiplos órgãos e sistemas do organismo, principalmente nos sistemas cardiocirculatório, renal, de coagulação, pulmonar, neurológico e

metabólico. As principais conseqüências são: cardiomiopatia cirrótica, varizes de esôfago (hipertensão porta), ascite, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, encefalopatia hepática, disfunção sintética (coagulopatia), metabolismo de drogas alterado, osteodistrofia hepática e carcinoma hepatocelular. Baseado no acometimento sistêmico, existem vários escores de classificação clínica de gravidade da doença, entre eles a classificação de Child-Pugh (TAB. 1, SAMONAKIS *et al.*, 2004), classificação MELD/PELD (TAB. 2, GARG, 2005; HANJE; PATEL, 2007) e compensado/ descompensado ou pré-ascítico/ ascítico (SCHRIE, 1998; WONG; SHIDERMAN; BLENDIS, 1998).

TABELA 1
Classificação de Child-Pugh de gravidade da doença hepática

VARIÁVEIS	Escore 1	Escore 2	Escore 3
Ascite	ausente	suave	Moderada/grave
Encefalopatia	ausente	Estágio I/II	Estágio III/IV
Albumina(g/dl)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Bilirrubina(mg/dl)	<2	2-3	>3
Bilirrubina para cirrose biliar primária	<4	4-10	>10
Tempo de protrombina (segundos prolongados)	4	4-6	>6
RNI	<1.7	1.7-2.3	>2.3

Child-Pugh A:5-6 pontos; Child-Pugh B:7-9 pontos; Child-Pugh C:10-15 pontos.

TABELA 2
Cálculo do escore MELD

$$\text{MELD} = (9,6 \times \log_e[\text{creatinina mg/dl}]) + (3,8 \times \log_e[\text{bilirrubina mg/dl}]) + (11,2 \times \log_e[\text{RNI}]) + 6,4$$

Escore máximo = 40 (valores maiores são considerados 40).

Qualquer valor laboratorial menor que 1,0 é considerado 1,0.

Valor máximo de creatinina é 4 mg/dl, valores maiores são considerados 4 mg/dl.

Paciente que fez diálise duas vezes na semana anterior, creatinina=4 mg/dl.

Na evolução da cirrose, o sistema cardiovascular torna-se disfuncional. O comprometimento da função cardíaca foi recentemente definido como cardiomiopatia cirrótica, uma entidade diferente daquela vista na doença cardíaca alcoólica e caracterizada por contratilidade cardíaca reduzida frente a aumentos de pré e pós-carga, função de receptores adrenérgicos reduzida e disfunção da membrana plasmática com anormalidades de condução (QT prolongado no eletrocardiograma - ECG) - (MOLLER; HENRIKSEN, 2002).

Como disfunção circulatória, a cirrose hepática pode apresentar hipertensão portal e circulação sistêmica hiperdinâmica, caracterizada por alto débito cardíaco e baixa resistência vascular periférica (VAUGHAN; CHINDUSTING, 2003). São as complicações hemodinâmicas da cirrose hepática crônica (hipertensão porta e circulação sistêmica hiperdinâmica) que levam o paciente ao óbito, por sangramento de varizes do esôfago, ascite com peritonite espontânea, encefalopatia hepática e síndrome hepatorenal, mais que a insuficiência hepática por si.

A alteração da arquitetura tecidual hepática presente na cirrose pela formação de nódulos regenerativos e obliteração dos vasos hepáticos é o passo inicial para o desenvolvimento da hipertensão portal. Associado a esse fenômeno mecânico fixo, existe também um componente dinâmico da resistência portal que é mediado pelos mielofibroblastos perissinusoidais contráteis e células estreladas ativadas. Essas células aumentam o tônus vascular sinusoidal em resposta à atividade adrenérgica e peptídeos vasoconstritores, tais como endotelina e AngII. Entretanto, a hipertensão portal não é puramente um fenômeno de resistência. Mudanças hemodinâmicas ocorrem nos sistemas circulatório, hepático e esplâncnico, que contribuem para a síndrome.

Além dessa vasoconstrição e da interrupção anatômica que ocorre na circulação intra-hepática, na circulação sistêmica - particularmente no leito esplâncnico - vasos estão hiperêmicos e têm fluxo sanguíneo aumentado. Assim, a hipertensão portal ocorre devido ao aumento na resistência intra-hepática em associação ao fluxo sanguíneo portal aumentado (BLENDIS; WONG, 2001).

A circulação hiperdinâmica associada à cirrose é inicialmente devida à vasodilatação arterial na circulação esplâncnica secundária à hipertensão portal. Essa vasodilatação esplâncnica associa-se à retenção renal de água e sódio. Nas fases iniciais da doença, enquanto a ascite não se desenvolveu, a homeostase

circulatória é mantida pelo desenvolvimento da circulação hiperdinâmica (alto volume plasmático, índice cardíaco e frequência cardíaca). Contudo, quando a doença progride e a vasodilatação arterial esplâncnica aumenta, esse mecanismo compensatório é insuficiente para manter a homeostase circulatória. A pressão arterial reduz e ocorre aumento da atividade do sistema nervoso simpático, SRA, níveis circulantes de hormônio antidiurético e mais retenção renal de sódio e água (FIG. 1).

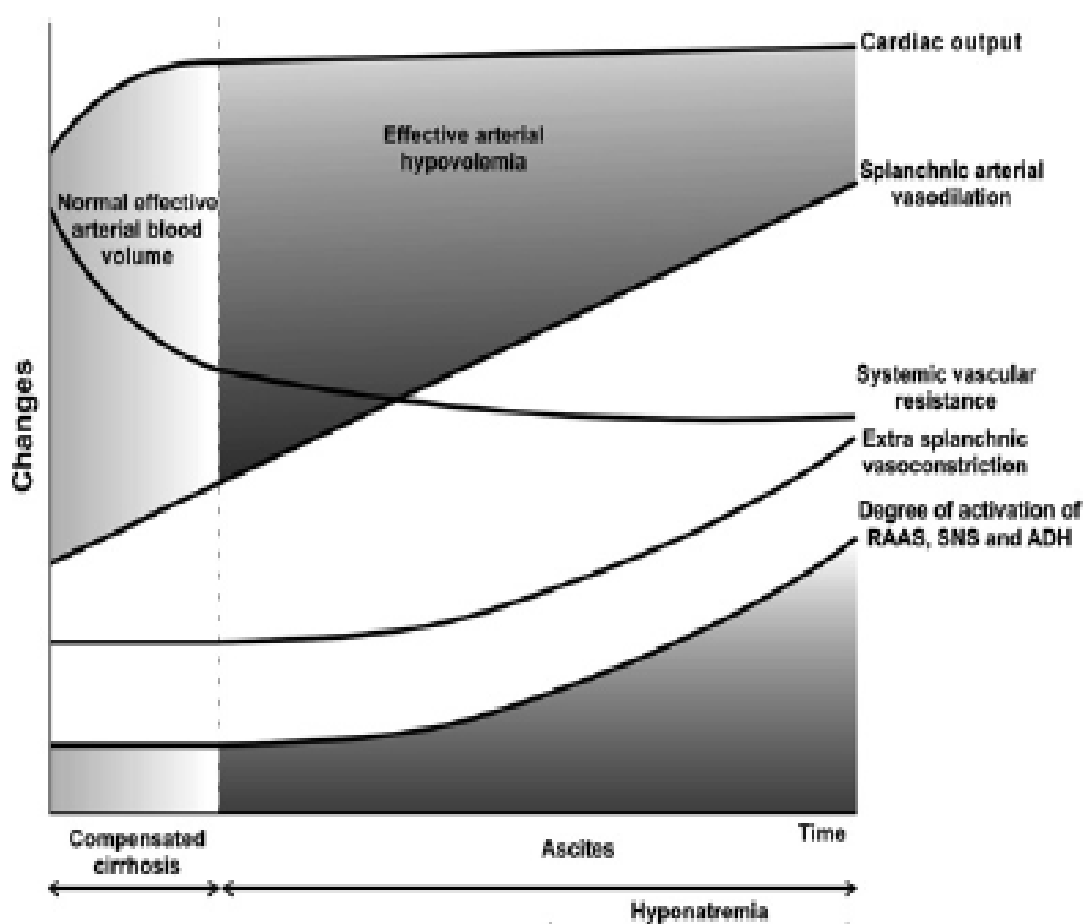


FIGURA 1 – Mudanças hemodinâmicas nas fases clínicas da cirrose hepática.

Fonte: Arroyo, Terra e Ginès (2007).

A circulação hiperdinâmica da cirrose, a princípio, pode ser detectada sistemicamente apenas na posição supina, conseqüente a vaso-relaxamento

passivo, provavelmente devido à redistribuição do volume extracelular aumentado, secundário à retenção subclínica de sódio, dentro do compartimento central.

Em algum momento futuro da história natural da cirrose hepática, a circulação sistêmica hiperdinâmica torna-se clinicamente evidente a todo o momento e envolve vasodilatação ativa, hiporresponsividade a vasoconstritores, *shunting* porto-sistêmico aumentado e desenvolvimento de novos vasos (angiogênese) - (BLENDIS; WONG, 2001). Na fase inicial da cirrose, a manifestação clínica da circulação sistêmica hiperdinâmica se associa à supressão do SRA circulante, ao contrário da fase final, quando, como já dito, coexiste contínua ativação sistêmica desse sistema.

A presença de cirrose hepática está associada ao SRA diferente do fisiológico, tanto intra-hepático (tecidual) como sistêmico (circulante). Essas alterações algumas vezes representam causa e outras vezes consequências da doença.

O SRA exerce papel importante na lesão da doença cardíaca e renal pela AngII, com sua potente ação vasoconstritora e profibrótica, e também na fibrose hepática, fato confirmado a partir de estudos em seres humanos e ratos (PAIZIS *et al.*, 2002; 2005). Existe um *up-regulation* dos componentes do SRA intra-hepáticos em cirrose experimental (ZHANG *et al.*, 2003) e tem-se verificado que inibidores do sistema inibem a fibrose hepática em diversos modelos animais.

Além disso, no paciente cirrótico descompensado existe ativação do eixo clássico do SRA sistêmico (circulante) em resposta à vasodilatação esplâncnica e sistêmica. E, embora o efeito vasoconstritor da AngII esteja reduzido em pacientes cirróticos descompensados, essa resposta de ativação desse eixo do SRA, nesta fase, tem importante papel na manutenção da pressão sanguínea e perfusão renal.

A avaliação do SRA na cirrose hepática humana até o momento tem focado principalmente apenas um dos dois eixos do metabolismo da AngI, o eixo da produção de AngII por meio da ECA. O eixo da produção de Ang1-7 por meio da ECA2 tem ganhado pouca atenção. É o objetivo principal deste trabalho avaliar os dois eixos do SRA e suas relações funcionais finais nas duas fases da cirrose hepática humana, pacientes pré-ascíticos (compensados) e pacientes ascíticos (descompensados).

1.1 Sistema cardiovascular e cirrose

1.1.1 Cardiomiopatia cirrótica

Coração e fígado são órgãos interligados fisiopatologicamente, podendo as doenças cardíacas afetar o fígado com o desenvolvimento de cirrose cardíaca e doenças hepáticas acometer o coração com o desenvolvimento de cardiomiopatia cirrótica. As enfermidades cardíacas e hepáticas podem também ter etiologia comum, como é visto em doenças metabólicas e infecciosas.

Do ponto de vista funcional, o coração na cirrose é ao mesmo tempo hiperdinâmico e disfuncional. Estudos clínicos e experimentais de pacientes com cirrose sugerem fortemente a presença de insuficiência cardíaca latente com reduzidas reações aos testes provocativos padronizados. Isto tem permitido a introdução de uma nova entidade clínica, a cardiomiopatia cirrótica, a qual pode incluir diferentes mecanismos fisiopatológicos. Entre esses mecanismos, parecem participar: disfunção sistólica e diastólica, anormalidades de condução, disfunção autonômica e presença de substâncias cardiodepressoras (MOLLER; HENRIKSEN, 2002).

Disfunção sistólica e diastólica latentes com capacidade de trabalho reduzida está presente na cirrose hepática e torna-se manifesta em alguns pacientes se o coração é submetido a estresse. O tipo de insuficiência cardíaca na cirrose pode ser mais bem caracterizada como de alto débito. Fibrose irregular e peso cardíaco aumentado podem afetar a rigidez da parede miocárdica e resultar em enchimento ventricular esquerdo reduzido e disfunção diastólica. E a disfunção diastólica pode ser um importante fator no desenvolvimento da insuficiência cardíaca, pode preceder a disfunção sistólica e pode exercer importante papel na patogênese da retenção de sódio e líquidos na cirrose hepática (MOLLER; HENRIKSEN, 2002).

A fluidicidade da membrana plasmática e a função dos seus canais iônicos estão reduzidas na cirrose hepática. Propriedades bioquímicas e biofísicas da membrana celular determinam a mobilidade das proteínas ligadas à membrana. Essa mobilidade é conhecida como fluidicidade da membrana, que influencia na função de vários receptores ligados à membrana, incluindo os β -receptores adrenérgicos. Alterações na fluidicidade da membrana celular têm

também influência na função anormal de outros componentes ligados à membrana, incluindo os canais iônicos (LIU; GASKAR; LEE, 2006). Já foi demonstrada redução nas correntes de potássio nos miócitos de ratos cirróticos, o que tende a prolongar o intervalo QT (MOLLER; HENRIKSEN, 2002). Pacientes cirróticos também podem apresentar intervalo QT longo, levando a arritmias ventriculares e morte cardíaca súbita (BERNARDI *et al.*, 1998; DAY *et al.*, 1993).

Testes reflexos cardiovasculares de vários estudos têm mostrado disfunção autonômica simpática e parassimpática em pacientes com cirrose hepática, dependendo da gravidade da doença (TREVISANI *et al.*, 1999). Pacientes com cirrose exibem atividade do sistema nervoso simpático (SNS) aumentada com o nível de catecolaminas circulantes diretamente relacionado à gravidade da doença. Tônus simpático aumentado com exposição celular aumentada à noradrenalina por longos períodos causa lesão miocárdica e função β -adrenérgica reduzida. Estudos em modelos animais cirróticos indicam *down regulation*, com densidade de β -adrenoreceptor reduzida em cardiomiócitos e dessensibilização de receptor (MA; MIYAMOTO; LEE, 1996). A expressão e responsividade dos receptores β -adrenérgicos, assim como a via de sinalização pós-receptor, estão bloqueadas no tecido cardíaco de ratos cirróticos (LIU; GASKAR; LEE, 2006). Disfunção pós-receptor foi encontrada em diferentes níveis, incluindo conteúdo e função de proteína Gs, desacoplamento de receptor β -adrenérgico e complexo de proteína G e responsividade da adenil ciclase ao estímulo (MA; MIYAMOTO; LEE, 1996). A disfunção cardíaca em cirrose experimental é em parte consequência da combinação de defeitos no receptor e pós-receptor no coração (MA; LEE, 1996; ZAVECZ *et al.*, 2000). Sinal de transdução β -adrenérgico reduzido pode ser um importante elemento na patogênese da cardiomiopatia cirrótica. A importância da redução vagal na cirrose tem também sua participação na cardiomiopatia cirrótica (DILLON *et al.*, 1997).

Outros mecanismos potenciais da função cardíaca reduzida na cirrose são a produção de substâncias cardiodepressoras, tais como endotoxinas, endotelinas, citocinas, ácidos biliares e óxido nítrico (CHU *et al.*, 1997).

Até o presente, nenhum tratamento específico pode ser recomendado e a insuficiência ventricular evidente em pacientes cirróticos deve ser tratada igualmente às de causas não cirróticas, ou seja, com restrição de sódio e diuréticos e redução de pós-carga. Atenção especial deve ser dada ao paciente

cirrótico que se submeterá a estresse como cirurgia, implante de *shunt* e transplante hepático. Nessas situações, a insuficiência cardíaca latente pode se tornar aparente e grave (LIU; GASKAR; LEE, 2006).

1.1.2 Disfunção circulatória (hipertensão porta e circulação hiperdinâmica) na cirrose hepática

A anormalidade básica subjacente do fluxo aumentado associado à circulação hiperdinâmica na cirrose é a vasodilatação e a formação de *shunts* (KONTOS *et al.*, 1964). A vasodilatação é definida como a ampliação do lúmen vascular, manifestando-se como ampliação de vasos sanguíneos já funcionando, como a abertura de canais arteriovenosos preexistentes ou ambos. Na cirrose, a vasodilatação ocorre principalmente no leito vascular esplâncnico, com ampliação da veia porta. Também ocorre em outros leitos vasculares, como a circulação pulmonar, onde inclui ampliações de vasos pulmonares e o desenvolvimento de canais arteriovenosos.

Em relação aos *shunts* no contexto de cirrose, são conexões veno-venosas ligando circulação de alta pressão portal à circulação de baixa pressão não portal. Eles são formados quando a resistência aumentada ao fluxo portal devido à cirrose força o sangue a divergir da veia porta através de já existentes ou recentemente formados colaterais veno-venosos e eventualmente retornar ao coração. Exemplos desses canais colaterais são: varizes de esôfago que ligam a veia porta à veia azigo e veia cava superior e varizes retais que conectam a veia cava inferior.

Shunts terapêuticos também podem ser criados cirúrgica ou radiograficamente para reduzir a pressão portal, por exemplo: *shunts* porto-cava cirúrgicos e *shunts* porto-sistêmicos intra-hepáticos transjugular radiológicos (TIPSs). Quando pacientes cirróticos foram divididos em com e sem *shunts* porto-sistêmicos cirúrgicos adicionais, mas com comparável função hepática, os que receberam *shunts* cirurgicamente tiveram circulação hiperdinâmica significativamente aumentada (KELLER *et al.*, 1988). Assim, a presença tanto de vasodilatação quanto de *shunts* ou de ambos pode induzir o desenvolvimento de circulação hiperdinâmica. Outro exemplo de circulação hiperdinâmica inclui

gravidez, a qual está associada à vasodilatação generalizada, bem como com *shunt* do sangue por meio da placenta. Alternativamente, uma grande fístula arteriovenosa ou múltiplas pequenas fistulas arteriovenosas sozinhas podem causar circulação hiperdinâmica. Portanto, todos os três componentes - vasodilatação generalizada, abertura de fistula arteriovenosa e *shunts* venosos - podem causar circulação hiperdinâmica.

Numa condição como a de cirrose, no estudo da circulação hiperdinâmica é essencial reconhecer alguns fatores básicos. Primeiro, nem a extensão da vasodilatação nos vários leitos vasculares, nem o fluxo sangüíneo dentro dos vasos, nem a quantidade de *shunts* são estáticos durante a história natural da cirrose. Eles podem aumentar ou diminuir à medida que a doença hepática progride. Essas mudanças parecem estar relacionadas a fatores específicos do estágio da doença hepática. Por exemplo, está bem estabelecido que o *shunt* porto-sistêmico geralmente eleva-se com a progressão da doença hepática e com o aumento na resistência da veia porta.

O fluxo venoso portal associado à vasodilatação geralmente está aumentado em paciente cirrótico bem compensado (paciente com nenhuma evidência clínica de complicações extra-hepáticas). Em contraste, no paciente em estágio final com cirrose descompensada (pacientes com significativas complicações extra-hepáticas, tais como ascite e varizes de esôfago), o fluxo sangüíneo portal, na presença de grave resistência de um pequeno fígado cirrótico e aumentado *shunt*, pode gradualmente reduzir. Eventualmente, em aproximadamente 15% dos pacientes cirróticos com doença em estágio final a direção do fluxo é revertida de "hepatocêntrica" para hepatofuga (GAIANI, *et al.*, 1991), embora o leito vascular esplâncnico geralmente permaneça vasodilatado.

A vasodilatação não é sempre associada a fluxo sangüíneo aumentado. Em paciente cirrótico bem compensado, a maioria dos leitos vasculares tem sido descrita como tendo fluxo normal ou aumentado. Nos cirróticos descompensados, o fluxo sangüíneo na maioria dos leitos vasculares mostra-se reduzido, apesar de clinicamente os pacientes parecerem mais vasodilatados e hipotensos. Esse fluxo reduzido é devido tanto a um fenômeno de roubo de leito vascular não vasodilatado para um vasodilatado ou à vasoconstrição ativa em leitos vasculares. Por exemplo, em pacientes cirróticos bem compensados, o fluxo sangüíneo renal está normal ou aumentado, associado à hiperfiltração glomerular

(WONG *et al.*, 1993). Na descompensação, o fluxo sanguíneo renal está invariavelmente reduzido, associado à vasoconstrição renal.

O fluxo sanguíneo cerebral é normal ou aumentado em pacientes com cirrose compensada (LARSEN; OLSEN; EJLERSEN, 1995), mas é normal ou reduzido em pacientes descompensados com ascite (GUEVARA *et al.*, 1998). Portanto, na história natural da circulação hiperdinâmica, o desenvolvimento do *shunt* porto-sistêmico está claramente relacionado à resistência aumentada ao fluxo sanguíneo portal. Em contrapartida, o desenvolvimento da vasodilatação é muito mais variável e a patogênese da vasodilatação é claramente muito mais complexa, tanto que mesmo na presença de circulação sistêmica hiperdinâmica, a vasodilatação de um leito vascular individual não é obrigatória.

Aparentemente, a circulação hiperdinâmica na cirrose hepática começa no leito venoso esplâncnico em algum momento do estágio inicial da história natural dos pacientes com hipertensão portal, em associação ao desenvolvimento de *shunts*. Inicialmente, ela pode ser detectada sistemicamente, apenas na posição supina devido ao vaso-relaxamento, presumivelmente devido à redistribuição do excesso de líquido extracelular, secundário à retenção subclínica de sódio dentro do compartimento sanguíneo central (coração, grandes vasos de base, circulação pulmonar - todos dentro da cavidade torácica) - (BERNARDI *et al.*, 1993).

Em algum estágio da cirrose, a circulação hiperdinâmica torna-se clinicamente evidente em todos os tempos e envolve a maioria dos compartimentos vasculares mensuráveis em associação à vasodilatação ativa (não apenas para acomodar um volume extracelular central aumentado). A descompensação da função hepática e a elevação dos vasoconstritores circulantes e a hiporresponsividade a esses vasoconstritores circulantes tornam-se evidentes. Assim, apesar dos níveis incrivelmente elevados de vasoconstritores circulantes, o paciente torna-se mais hipotenso sistemicamente, presumivelmente devido à vasodilatação ativa em certos leitos vasculares. Contudo, essa hiporresponsividade vascular não é universal, uma vez que alguns leitos vasculares progridem para um estado de fluxo sanguíneo reduzido, com ou sem vasoconstrição ativa.

Dessa forma, duas fases patogênicas têm sido propostas para a circulação hiperdinâmica da cirrose (FIG. 2, 3) - (BLENDIS; WONG, 2001).

Inicialmente, relaxamento vascular passivo e hiperdinamia resultante parecem ser secundários à expansão do volume sanguíneo. Posteriormente, uma fase mais complexa - com vasodilatação ativa associada à hiporresponsividade a vasoconstritores, especialmente nos leitos esplâncnicos, *shunt* porto-sistêmico aumentado - e o desenvolvimento de novos vasos por angiogênese comumente são parte da explicação (FIG. 4). Essas mudanças parecem incluir ambas as transformações funcionais e estruturais no músculo liso vascular, que podem ser diferentes no leito venoso portal e leito arterial mesentérico e podem envolver outras anormalidades, como uma neuropatia autonômica. O atraso da reversão da circulação hiperdinâmica, após o transplante hepático (6-12 meses) - (PISCAGLIA *et al.*,1999), poderia estar relacionado ao remodelamento vascular que ocorre na cirrose e na angiogênese.

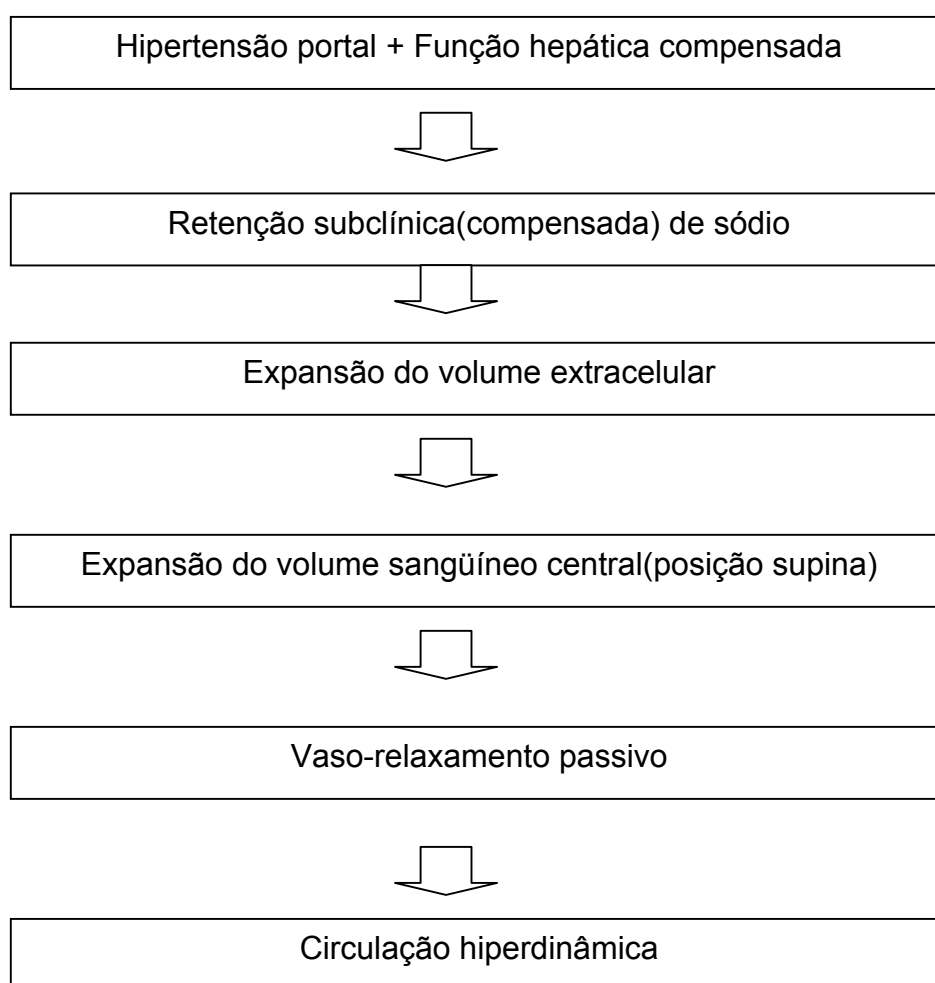


FIGURA 2 - Patogênese da circulação hiperdinâmica na cirrose (estágio inicial).

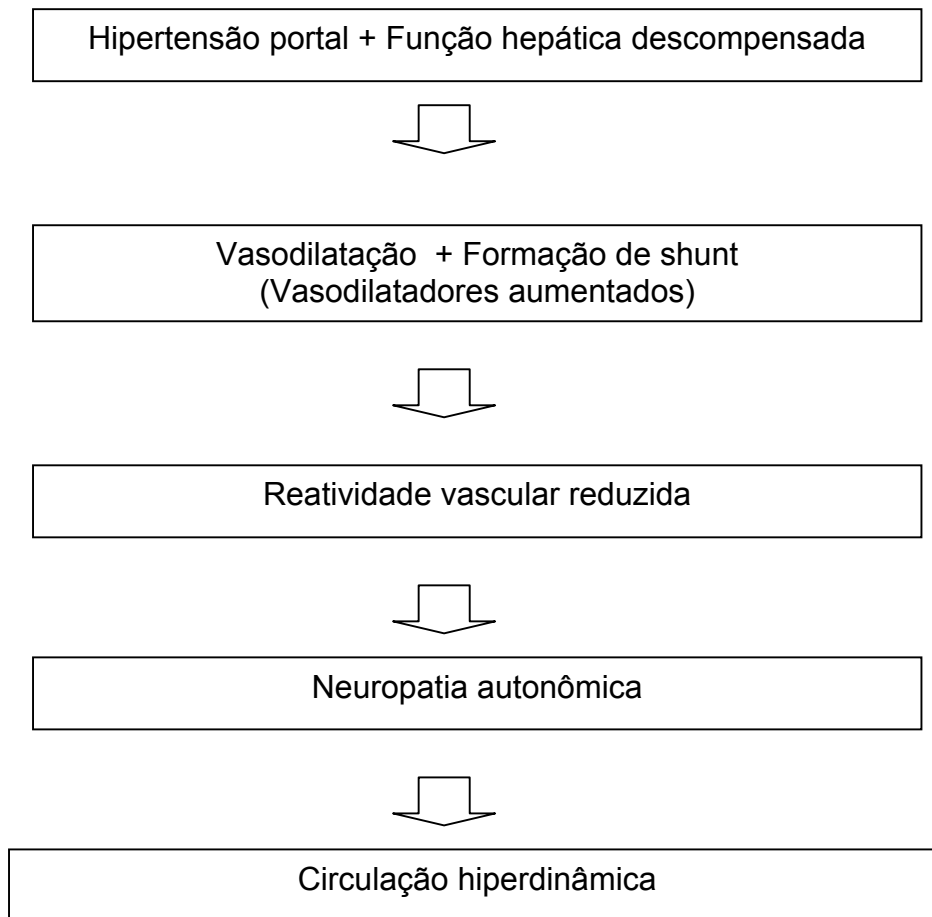
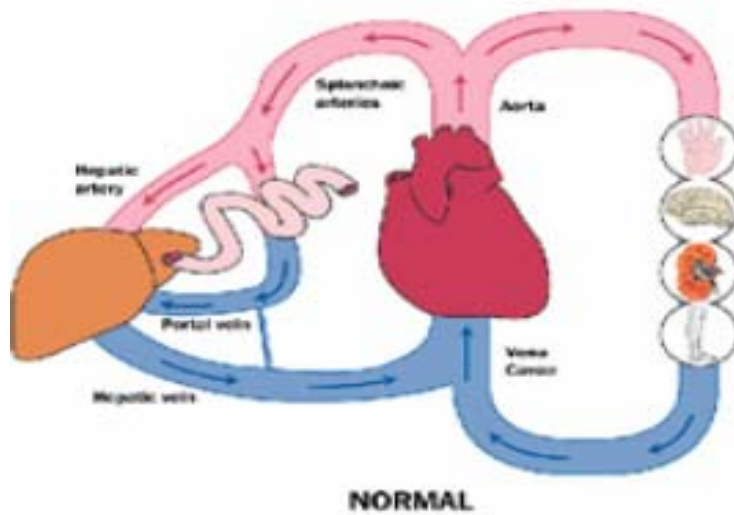
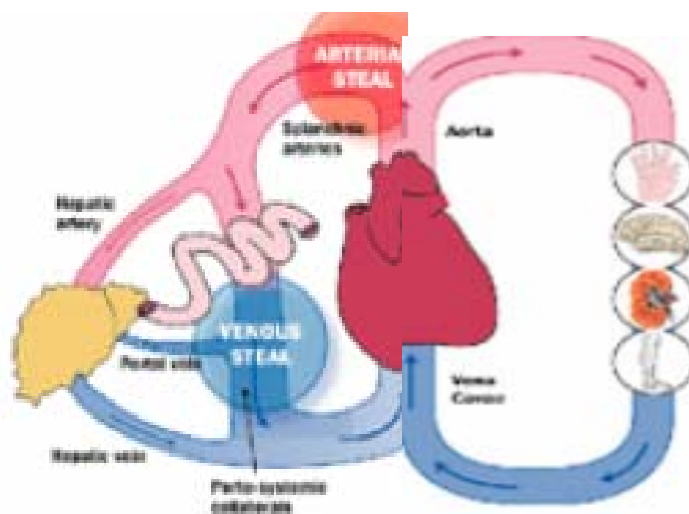


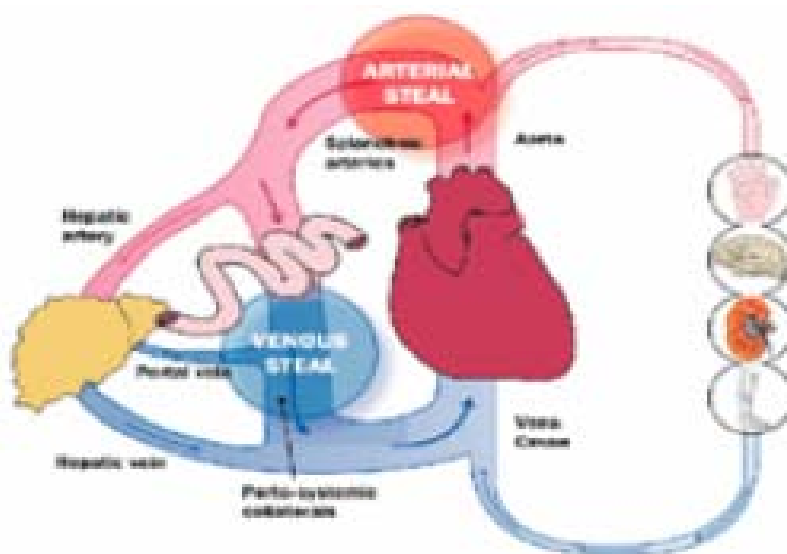
FIGURA 3 - Patogênese da circulação hiperdinâmica da cirrose (estágio II tardio).



NORMAL



C. COMPENSADO



C. DESCOMPENSADO

FIGURA 4 - Fluxo sanguíneo esplâncnico e sistêmico normal e do cirrótico.

Fonte: adaptado de Newby e Hayes (2002).

1.1.2.1 Disfunção renal da cirrose hepática

Paralelamente à disfunção circulatória da cirrose e participando da sua fisiopatologia, acontece a disfunção renal da cirrose. A habilidade renal reduzida de excretar sódio e água livre e redução na perfusão renal e ritmo de filtração glomerular (RFG) são as três principais anormalidades renais na cirrose hepática (GINÈS *et al.*, 1997). A principal consequência da habilidade renal de excretar sódio reduzida é o desenvolvimento de retenção de sódio e ascite. Isto ocorre quando a excreção de sódio renal se reduz abaixo da ingesta, a partir de dieta.

A habilidade renal para excretar água livre em indivíduos saudáveis é muito maior que o que seria necessário para eliminar a água ingerida em uma dieta normal. *Clearance* de água livre alcança 10 ml/min em indivíduos saudáveis, uma quantidade de água que só é ingerida em condição psiquiátrica grave. Hiponatremia dilucional ([sódio] < 130mEq/l) é a consequência de excreção de água livre reduzida e isto ocorre quando o *clearance* de água livre está gravemente reduzido (usualmente <1 ml/min) - (ARROYO *et al.*, 1976). Finalmente, a principal consequência da perfusão renal e RFG reduzido é a síndrome hepatorenal, que tem sido arbitrariamente definida como RFG abaixo de 40 ml/min (normal=120 ml/min).

Retenção de sódio, hiponatremia dilucional e síndrome hepatorenal aparecem em diferentes tempos durante a evolução da doença (ARROYO *et al.*, 1996). E o curso clínico da cirrose pode ser dividido em fases de acordo com o início da cada uma destas complicações:

A) FASE I - Metabolismo renal de sódio reduzido na cirrose compensada

Cronologicamente, a primeira anormalidade na função renal ocorrendo na cirrose é a redução no metabolismo renal de sódio, que pode ser detectada antes do desenvolvimento da ascite, quando a doença é, então, ainda considerada compensada. Nessa fase da doença, o paciente apresenta perfusão renal normal, RFG e *clearance* de água livre normais e é capaz de excretar o sódio ingerido na dieta. Contudo, exhibe anormalidades sutis na excreção de sódio renal e mostram volume plasmático aumentado, com retenção de sódio acima dos valores normais. Algumas dessas anormalidades desenvolvem-se naqueles

pacientes com pressão de veia porta mais alta e resistência vascular periférica mais baixa, indicando relação com a deterioração da função circulatória (ARROYO; COLMENERO, 2003). O termo cirrose pré-ascítica tem sido usado para definir esta fase da doença, embora nenhum estudo tenha demonstrado que ela represente um estado de impedimento à formação de ascite (ARROYO; COLMENERO, 2003).

B) FASE II - Retenção renal de sódio sem ativação do SRA-aldosterona e sistema nervoso simpático (SNS)

Como resultado do progresso da doença, em certo momento pacientes se tornam incapazes de excretar sua ingesta regular de sódio. O sódio é, então, retido junto com a água e há acúmulo de líquido na cavidade abdominal - ascite. Perfusão renal, RFG, habilidade de excretar água livre, atividade de renina plasmática e concentração plasmática de hormônio antidiurético (ADH) são normais. Nesta fase, a retenção de sódio não está relacionada ao SRA-A e ao SNS, os dois mais importantes sistemas antidiuréticos identificados (SALÓ *et al.*, 1995). Os níveis plasmáticos de peptídeo atrial natriurético, peptídeo cerebral natriurético e hormônio natriurético estão aumentados nesses pacientes, indicando que a retenção de sódio não é devida à síntese reduzida de peptídeos natriuréticos endógenos (FERNANDEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 1994). A disfunção circulatória, embora maior que na cirrose compensada sem ascite, não é intensa o suficiente para estimular o SNS e o SRA-A. Ou ela ativaria um ainda desconhecido, extremamente sensível, mecanismo retentor de sódio (renal ou extra-renal) ou a retenção de sódio não se relacionaria à função circulatória (BERNARDI *et al.*, 1983). Investigações de manipulação intra-renal de sódio nesses pacientes sugerem que a retenção ocorre predominantemente no nefron distal (ANGELI *et al.*, 1990).

C) FASE III - Estimulação dos sistemas vasoconstritores endógenos com RFG e perfusão renal preservados

A retenção de sódio é intensa (excreção de sódio urinário < 10mEq/dia) quando SRA-A e SNS estão com atividade aumentada. O sódio é absorvido no

nefron inteiro. A aldosterona aumenta a reabsorção de sódio nos túbulos distal e coletor e o SNS renal estimula a reabsorção de sódio no túbulo proximal, alça de Henle e túbulo distal. O volume plasmático, débito cardíaco e resistência vascular periférica não diferem da fase prévia. A disfunção circulatória, contudo, é mais intensa porque a atividade aumentada do SNS e do SRA-A é necessária para manter a homeostasia circulatória. A pressão arterial aqui é criticamente dependente da atividade aumentada de SRA-A, SNS e ADH (ARROYO; COLMENERO, 2003). Embora AngII, norepinefrina e ADH sejam poderosos vasoconstritores renais, a perfusão renal e o RFG nesta fase são normais ou apenas moderadamente reduzidos porque seu efeito na circulação renal são antagonizados por mecanismos vasodilatadores renais, particularmente as prostaglandinas (PGs). A cirrose é a condição humana na qual a perfusão renal e o RFG são mais dependentes da produção renal de prostaglandinas, podendo desenvolver-se grave insuficiência renal se as PGs renais forem inibidas com drogas antiinflamatórias não esteróides nesta fase. Outros sistemas vasodiladores envolvidos na manutenção da função renal nesta etapa são óxido nítrico e peptídeos natriuréticos (ARROYO; COLMENERO, 2003). A habilidade renal para excretar água livre é reduzida, próprio de altos níveis plasmáticos de ADH. Todavia, apenas alguns pacientes têm hiponatremia significativa porque o efeito de ADH é contrabalanceado pelo aumento da produção renal de prostaglandina E2.

D) FASE IV - Desenvolvimento da síndrome hepatorenal (SHR) tipo 2

A SHR é uma insuficiência renal funcional secundária à hipoperfusão renal intensa. Tem sido classificada em dois tipos, de acordo com a intensidade e a forma de apresentação da insuficiência renal. A SHR tipo 2 é caracterizada pela redução constante e moderada da função renal (creatinina entre 1,5 e 2,5 mg/dl ou RFG < 40 ml/mim) na ausência de outras potenciais causas de insuficiência renal (ARROYO *et al.*, 1996). Muitos pacientes com RFG abaixo de 40 ml/mim têm creatinina sérica e uréia normais, portanto, muitas vezes, uréia e creatinina séricas não são sensíveis indicadores da avaliação da função renal na cirrose avançada. A prevalência da SHR tipo 2 pode ser subestimada quando apenas creatinina e uréia séricas são utilizadas na avaliação clínica (ARROYO;

COLMENERO, 2003). Esse tipo desenvolve-se em fase avançada da cirrose hepática, em situação de intensa piora da função circulatória. Pacientes acometidos apresentam níveis plasmáticos muito altos de renina, aldosterona, norepinefrina e ADH, significativa hipotensão arterial e aumentada frequência cardíaca. A resistência vascular arterial é aumentada não apenas nos rins, mas também no cérebro, músculos e pele, indicando a vasoconstrição arterial de muitos órgãos para compensar a vasodilatação arterial esplâncnica. A SHR tipo 2 é provavelmente devida à superatividade dos sistemas vasoconstritores se sobrepondo aos mecanismos vasodilatadores intra-renais (ARROYO; COLMENERO, 2003). O grau de retenção de sódio é muito intenso na SHR tipo 2. Os pacientes apresentam filtração de sódio reduzida e reabsorção aumentada no túbulo proximal. O fornecimento de sódio ao nefron distal, local de ação dos diuréticos, é muito baixo e muitos indivíduos passam a não responder aos diuréticos, apresentando ascite refratária. *Clearance* de água livre está também muito reduzido nesta fase e a maioria dos pacientes mostra significativa hiponatremia (ARROYO; COLMENERO, 2003).

E) **FASE V** - SHR tipo 1

A SHR tipo 1 é caracterizada por progressiva insuficiência renal, a qual tem sido definida como: dobrar a creatinina sérica, alcançando nível superior a 2,5 mg/dl em menos de duas semanas. Embora possa ocorrer espontaneamente, a SRH tipo 1 geralmente se verifica cronologicamente associada a um fator precipitante, tal como infecção bacteriana grave, hepatite aguda superimposta à cirrose, procedimento cirúrgico de grande porte ou hemorragia digestiva (ARROYO; COLMENERO, 2003).

1.1.3 Papel do endotélio vascular

Hipotensão, baixa resistência vascular sistêmica e reduzida sensibilidade à administração exógena de vasoconstritores *in vivo* são características comuns da síndrome hiperdinâmica na hipertensão portal e são fatores patogênicos desencadeadores das mais graves complicações clínicas da

cirrose hepática (LEBREC; MOREAU, 1999; LIU; GASKAR; LEE, 2006). Contudo, os que diretamente iniciam a vasodilatação permanecem obscuros. A hipótese que tem recebido mais atenção nas últimas décadas é a teoria do fator humoral.

Na cirrose, a resistência intra-hepática aumentada induz a formação de colaterais porto-sistêmicas, permitindo que substâncias humorais derivadas do intestino entrem diretamente na circulação sistêmica sem metabolismo pelo fígado. Esses fatores humorais derivados do intestino ou produzidos localmente têm sido implicados como possíveis mediadores da vasodilatação periférica da cirrose ou hipertensão portal (LIU; GASKAR; LEE, 2006). Devido ao alterado perfil hemodinâmico na hipertensão portal, mudanças dramáticas nas forças mecânicas, ambas de pressão e fluxo, podem ter papel de destaque no controle endotelial e sinalização, estrutura e função das células musculares lisas vasculares na cirrose (WILLIAMS, 1998).

As células endoteliais formam a camada íntima dos vasos sanguíneos e desempenham papel importante em muitos processos fisiopatológicos, incluindo hipertensão portal e cirrose. Elas realizam uma variedade de funções, incluindo transporte de água e solutos, regulação de lipídeos plasmáticos, participação em reações imunológicas e inflamatórias, manutenção da fluidicidade do sangue e ajuste do calibre dos vasos sanguíneos a cada mudança hemodinâmica e do ambiente hormonal (MICHEL; CURRY, 1999). Ocupando localização estratégica entre a circulação sanguínea e os tecidos, as células endoteliais são capazes de perceber mudanças nas forças hemodinâmicas (pressão de pulso, estresse de estiramento) e mediadores localmente produzidos ou circulantes. A tarefa do endotélio na regulação da estrutura e tônus vascular tem atraído considerável interesse desde a descoberta de que muitas substâncias biologicamente ativas podem exercer efeitos na função dos vasos via receptores nas células endoteliais (FIG. 5).

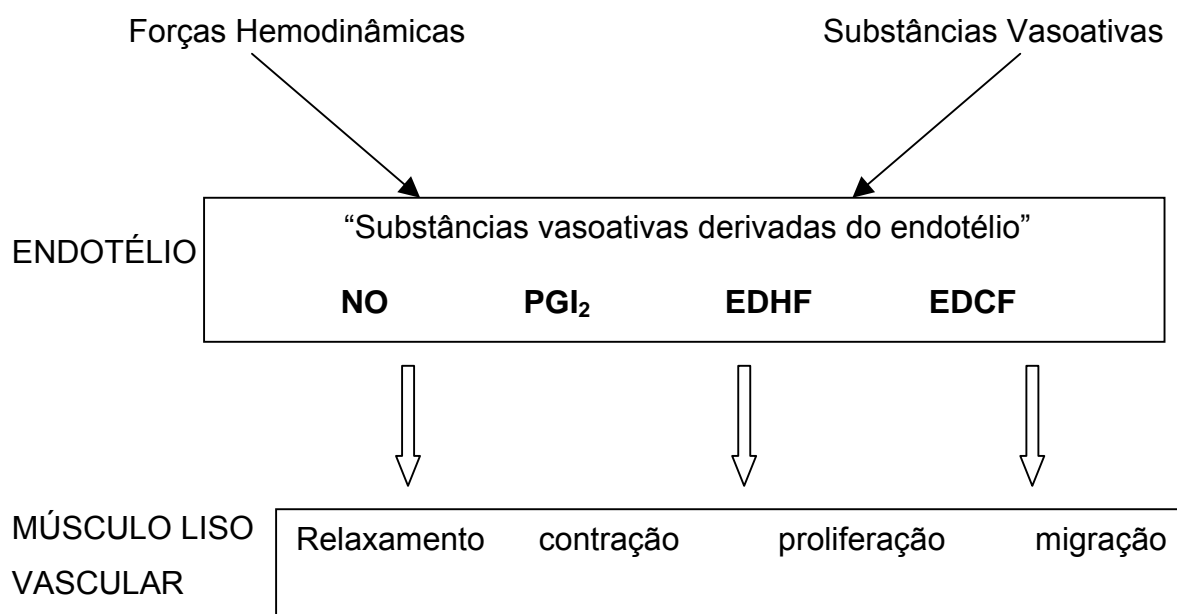


FIGURA 5 – Modulação do tônus e estrutura da célula muscular lisa vascular pelo endotélio.

NO: óxido nítrico, PGI₂: prostaciclina, EDHF: fator hiperpolarizante derivado do endotélio, EDCF: fator de contração derivado do endotélio.

As substâncias que têm mostrado mediar relaxamento dependente do endotélio incluem acetilcolina, adenosina trifosfato (ATP), substância P, bradicinina, serotonina, vasopressina, angiotensina II e histamina (BARON, 1999). Para algumas, a localização de receptores específicos nas células endoteliais já foi relatada. A ativação de receptores de membranas da célula endotelial inicia uma sequência de eventos com um componente chave, sendo a liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio (EDRFs) e fatores de contração derivados do endotélio (EDCFs), que subsequentemente afetam o tônus e a estrutura vascular.

Oxido nítrico (NO), prostaciclina (PGI₂) e fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHFs) são vasodilatadores poderosos liberados do endotélio em resposta a ambos os estímulos, hormonal e mecânico, que podem afetar profundamente as funções (agudamente) e a estrutura (cronicamente) do músculo liso vascular subjacente.

Os fatores de contração derivados do endotélio vascular (EDCFs), tais como a endotelina (ET), são substâncias vasoconstritoras liberadas do endotélio, hormonal e mecanicamente induzidas, e podem também afetar ambos, tônus e estrutura do músculo liso vascular (WILLIAMS, 1998).

Os endocanabinóides são substâncias que agem como lipídeos em dois receptores acoplados à proteína G inibitória, CB1 e CB2. O efeito vasodilatador do canabinóide endógeno na cirrose foi relatado primeiro em 2001, por Batkai *et al.* Anandamida, um canabinóide endógeno, está aumentado em monócitos de ratos cirróticos (BATKAI *et al.*, 2001). Infusões de monócitos isolados de ratos cirróticos em ratos normais reduzem a pressão arterial média nos receptores. Além disto, a administração de antagonistas de receptor CB1 em ratos cirróticos aumenta a resistência periférica total (BATKAI *et al.*, 2001). Esse mesmo grupo observou que antagonista de CB1 reduz fluxo sanguíneo mesentérico e pressão da veia porta em ratos cirróticos. Todos estes dados indicam que o tônus vascular na cirrose tem participação de receptores CB1 nas circulações sistêmica e esplâncnica. Já o que leva ao aumento de endocanabinóides nessa doença é pouco conhecido.

Varga *et al.* relataram que endotoxinas bacterianas estimulam a produção de endocanabinóides na cirrose (VARGA *et al.*, 1998). A relação entre endocanabinóides e óxido nítrico ainda é controversa, mas um estudo renal referenciou que a vasodilatação da anandamida é óxido nítrico dependente, porque foi completamente bloqueada por um inibidor de óxido nítrico sintase, semelhante ao antagonista de CB1 (DEUTSCH *et al.*, 1997).

O óxido nítrico (NO) é uma substância não prostanóide, difusível, lábil, que medeia a resposta de vaso-relaxamento desencadeada por fatores mecânicos e hormonais. Sob condições normais, é formado nas células endoteliais da L-arginina por uma enzima constitutiva chamada oxido nítrico sintase (NOS). Duas isoformas têm sido descritas nas células endoteliais, NOS induzível (iNOS) e NOS endotelial constitutivo (eNOS) - (MONCADA, 1999). A ativação da enzima eNOS é dependente da concentração de cálcio intracelular, é calmodulin dependente e requer nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e 5, 6, 7, 8-tetrahydrobiopterin para atividade ótima. A enzima pode ser inibida competitivamente por análogos da L-arginina. O iNOS, em contraste, é

cálcio independente liberado em copiosas quantidades, seguindo a indução por citocinas e endotoxinas.

O óxido nítrico tem sido extensivamente estudado na cirrose hepática. E está claro que, nessa doença, mudanças na atividade de NO afetam leitos vasculares diferentes e de formas diferentes (ANGELI, *et al.*, 2005). Na microcirculação hepática, a expressão de eNOS está reduzida em modelo de rato cirrótico (VAN DE CASTEELE *et al.*, 2002). Em contrapartida, a produção sistêmica de NO está aumentada em pacientes e modelos animais cirróticos (GARCIA-ESTAN; ORTIZ; LEE, 2002).

Essa liberação basal sistêmica aumentada de NO tem papel importante na patogênese da vasodilatação e hipocontratilidade associadas à hipertensão portal. *In vivo*, a administração de inibidor de NOS em ratos cirróticos normaliza a resistência vascular periférica reduzida e o débito cardíaco aumentado (NIEDERBERGER *et al.*, 1995) e, *in vitro*, reverte a hiporreatividade dos vasos sangüíneos a vasoconstritores (CLARIA *et al.*, 1994). A produção corporal total de NO aumentada na hipertensão portal sugere que o sistema vascular esplâncnico é importante fonte do NO liberado (LIU; LEE, 1999). Em adição, geração aumentada de NO na circulação central tem sido descrita e provavelmente contribui para o vaso-relaxamento pulmonar e disfunção cardíaca encontrados na cirrose. Embora seja forte a evidência de que a atividade da NOS esteja aumentada na cirrose e influa na circulação hiperdinâmica, permanece obscuro qual isoforma da NOS é a principal envolvida.

Em modelos animais de hipertensão portal, níveis basais da atividade de eNOS são elevados nos leitos venosos e arteriais (HELLER *et al.*, 1999). O aumento na atividade basal é cálcio dependente e, portanto, possivelmente mais relacionado à eNOS. Estudos recentes sugerem que uma *up-regulation* da atividade da eNOS na árvore vascular esplâncnica suplanta qualquer aumento no fluxo sangüíneo esplâncnico, significando que a estimulação mecânica pode não ser a única razão para a atividade exagerada dessa enzima na hipertensão portal (WIEST *et al.*, 1999). A óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) também tem sido descrita aumentada em ratos cirróticos e um seu inibidor específico reduziu de forma significativa a retenção de água e sódio e normalizou os índices hiperdinâmicos nesses ratos (XU *et al.*, 2000).

Diversos mediadores hormonais causam a liberação do NO a partir da ativação de receptores endoteliais específicos. As substâncias endógenas estimuladoras dessa liberação são hormônios circulantes (ex: catecolaminas, vasopressina), autacóides gerados na parede vascular (ex: bradicinina, histamina), mediadores liberados pelas plaquetas (serotonina, ADP) ou mediadores formados durante a coagulação (trombina) - (ARNAL *et al.*, 1999).

A prostaciclina (PGI₂), um importante produto da ciclo-oxigenase (COX), é formada primariamente nas células endoteliais e também na média e adventícia em resposta a estímulos físicos e humorais que também liberam NO (MARNETT *et al.*, 1999). Na maioria dos vasos sanguíneos, arteriais e venosos, a contribuição da PGI₂ para o relaxamento endotélio dependente é pouca e cumulativa ao efeito do NO. Além disso, as duas substâncias agem também sinergicamente na inibição da agregação plaquetária (STOLTZ *et al.*, 1999). Uma liberação basal aumentada de PGI₂ parece influenciar na patogênese da vasodilatação e hipocontratibilidade vascular associada à hipertensão portal.

A produção corporal total de PGI₂ está aumentada em animais com hipertensão portal (OHTA *et al.*, 1995). Os níveis de PGI₂ venoso portal são substancialmente mais elevados em animais com hipertensão porta e pacientes cirróticos, o que sugere que a liberação venosa portal de PGI₂ influi no desenvolvimento da hiperemia esplâncnica, circulação colateral e gastropatia portal hipertensiva (OHTA *et al.*, 1995). Estudos têm sugerido que NO e PGI₂ são os reguladores predominantes do fluxo sanguíneo arterial mesentérico na hipertensão portal. Entretanto, apesar da resposta pressora preferencial ao bloqueio da eNOS e COX ou a combinação de ambos (FERNANDEZ *et al.*, 1996), o fluxo sanguíneo da artéria mesentérica superior ainda permanece significativamente elevado na hipertensão portal, implicando que, em adição à PGI₂ e ao NO, outras substâncias vasoativas também podem estar envolvidas (IWAKIRI; GROSZMANN, 2007).

Por terem as células endoteliais vasculares papel crucial na regulação local da função das células musculares lisas vasculares, não é surpresa que a disfunção endotelial na hipertensão portal e cirrose atraia considerável atenção. As vias sinalizantes responsáveis pela ativação das células endoteliais induzidas por agonistas e/ou força mecânicas e como elas poderiam se tornar disfuncionais durante e/ou depois do início da doença têm gerado considerável interesse.

Células endoteliais são importantes protetoras da manutenção da função fisiológica normal e integridade estrutural da parede vascular por liberação de uma série balanceada de substâncias vasoativas. Quando essas células se tornam disfuncionais, elas perdem a capacidade de proteção e promovem ativamente mudanças fisiopatológicas nos vasos sanguíneos (CAHILL; REDMOND; STZMANN, 2001).

1.2 SRA

Desde a primeira identificação da renina por Tigerstedt e Bergmann, em 1898, o SRA tem sido extensivamente estudado. A visão atual do sistema é caracterizada por uma complexidade aumentada, como evidenciado pela descoberta de novos componentes funcionais e vias do SRA, além de sistemas localizados ou teciduais (CAREY; SIRAGY, 2003; SANTOS; FERREIRA, 2007; SCHMIEDER; HILGERS; SCHMIDT, 2007).

Na definição clássica, o SRA é um sistema peptídeo com características endócrinas. O substrato de sistema, angiotensinogênio, uma α -glicoproteína, é liberada do fígado e clivada na circulação pela enzima renina que é secretada do aparelho justaglomerular do rim para formar o decapeptídeo angiotensina I (AngI). Esta é então ativada para o octapeptídeo AngII pela enzima conversora de angiotensina (ECA), uma metaloproteinase ligada à membrana e que é predominantemente expressa em altas concentrações na superfície das células endoteliais na circulação pulmonar. A AngII, considerada o principal peptídeo efetor do SRA, age em receptores específicos, por exemplo, para induzir vasoconstrição por interagir com receptores de angiotensina nas células musculares vasculares ou por estimular a liberação de aldosterona do córtex adrenal (HALL, 2003). Esta visão do SRA, a qual tem sido gerada por evidências acumuladas durante décadas, tem se expandido significativamente a partir de descobertas mais recentes que aumentam a complexidade do sistema.

Diferentes receptores de Ang (AT1, AT2, AT4) e vias de sinal de transdução envolvidas têm sido caracterizados (NOUET; NAHMIAS, 2000). Além disto, peptídeos adicionais, tais como Ang-(1-7), têm sido identificados e vias alternativas de formação e clivagem (ECA2) de AngII têm sido confirmadas

(FERRARIO; CHAPPELL, 2004). Baseado no encontro de componentes do SRA em lugares incomuns (tal como renina no cérebro), onde ações endócrinas do sistema não poderiam explicar os achados, introduziu-se o conceito de SRA tecidual ou local (CAREY; SIRAGY, 2003; DZAU; RE, 1994). São vários os avanços técnicos que permitem os novos conhecimentos sobre o SRA, principalmente o uso da biologia molecular e a disponibilidade de modelos transgênicos e *knockout* com expressão de SRA alterada (LAKE-BRUSE; SIGMUND, 2000). Os genes para todos os componentes do SRA têm sido clonados e estudos da expressão gênica puderam verificar a regulação de RNAm desses genes em muitos tecidos, demonstrando a possibilidade de síntese local de AngII.

Está claro, também, que esses sistemas locais não são entidades isoladas, mas podem interagir com o SRA endócrino bem como com outros sistemas peptídeos em múltiplos níveis (SCHIFFRIN, 2005), podendo participar ativamente da fisiologia e fisiopatologia de vários órgãos, não apenas coração, vasos sanguíneos e rins. Somados, os novos conhecimentos sobre o SRA têm aumentado sua importância no estudo da fisiologia dos órgãos, abrindo nova porta para o entendimento e manejo da fisiopatologia de várias doenças.

1.2.1 Vias proteolíticas do SRA

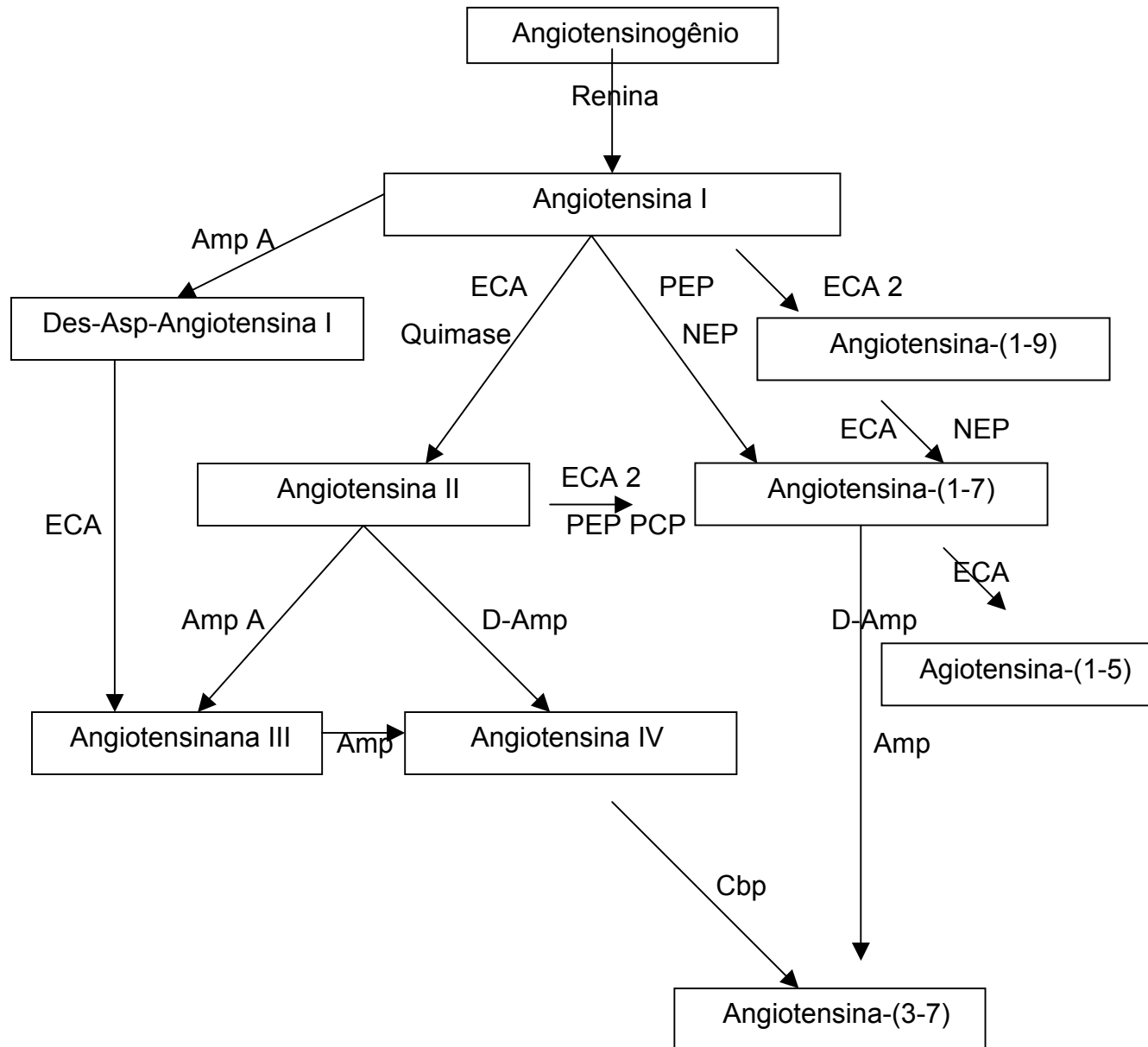


FIGURA 6 - Vias proteolíticas para formação das angiotensinas.

ECA: enzima conversora de angiotensina, Amp A: aminopeptidase A, Amp: aminopeptidases, Cbp: carboxipeptidases, D-Amp: dipeptidil-aminopeptidase I-III, NEP: endopeptidase neural, PCP: prolil-carboxipeptidase, PEP: prolil-endopeptidase, ECA 2:enzima conversora de angiotensina 2.

O conceito do SRA como um sistema de um único produto final fisiologicamente ativo tem dado lugar a um SRA mais flexível, com múltiplos

mediadores (FIG. 7 e 8). Dessa forma, a Ang I pode ser processada gerando diversos produtos biologicamente ativos, o que permite abordagem mais abrangente das múltiplas funções do SRA. As angiotensinas geradas a partir de Ang I nesse sistema peptídeo são Ang II, Ang – (2-8) (Ang III), Ang – (3-8) (Ang IV), Ang – (3-7) e Ang – (1-7). Esta última, Ang – (1-7), devido à possibilidade de ser gerada diretamente da Ang I e Ang II por vias não envolvendo a ECA e devido à sua alta seletividade, parece desempenhar papel central em contrabalançar as diversas ações de Ang II, incluindo seus efeitos vasoconstritores e proliferativos (FERREIRA; SANTOS, 2005; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000).

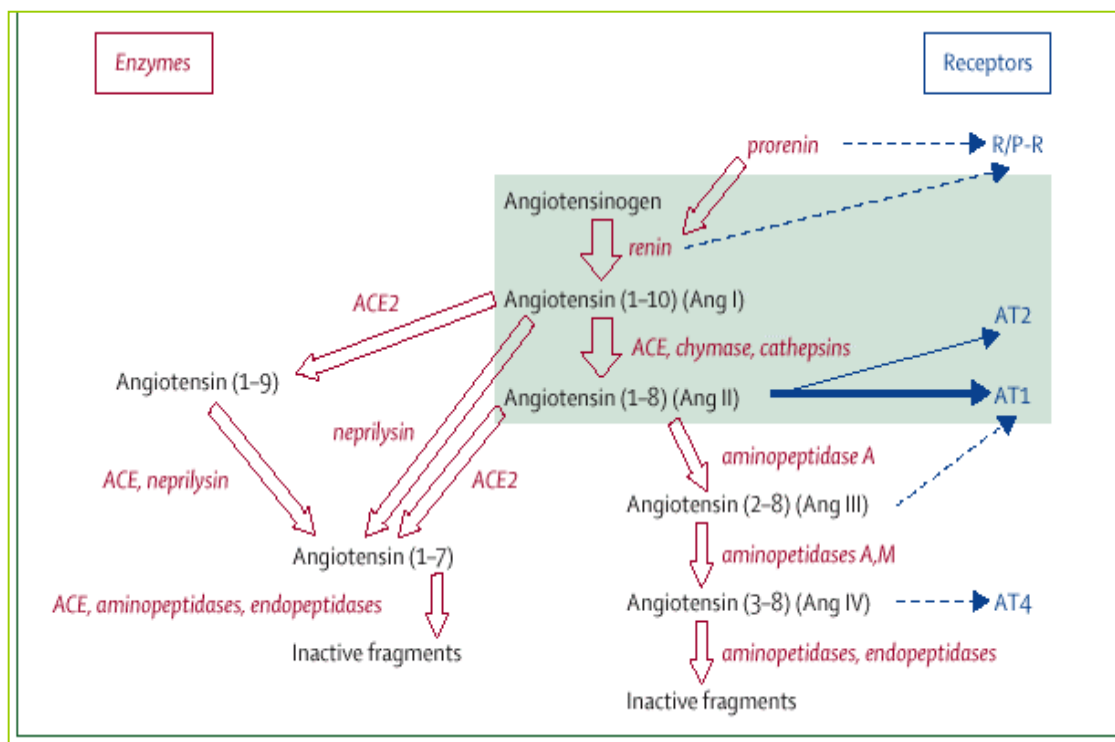


FIGURA 7 - SRA atual.

Fonte: Schmider (2007).

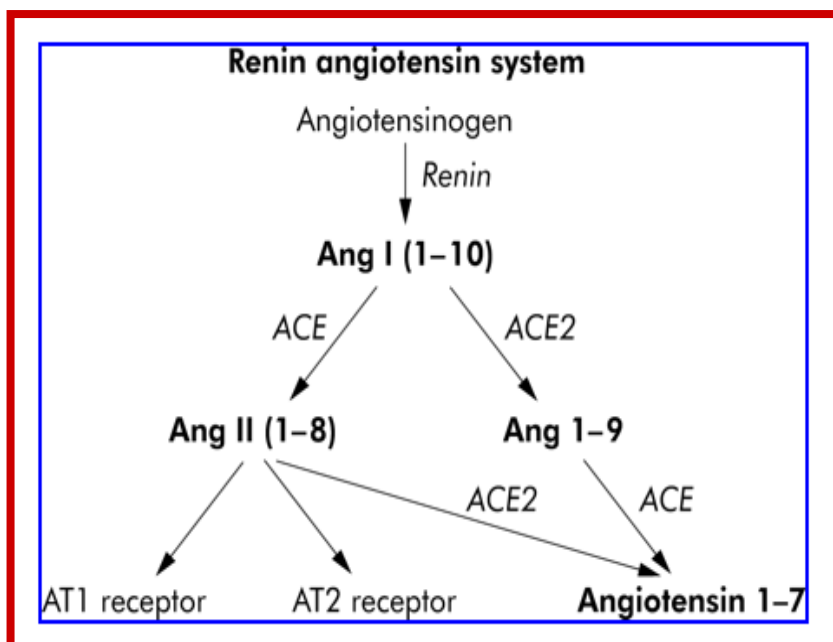


FIGURA 8 - SRA atual simplificado.

Fonte: Herath *et al.* (2007).

1.2.2 Pró-renina e renina

A ligação da pró-renina e renina na superfície celular nos tecidos é de importância crucial em relação à fisiologia do SRA local em nível tecidual, uma vez que promove um mecanismo para gerar AngII localmente, além da AngII que é produzida no plasma. O entendimento do papel potencial da ligação da renina e pró-renina tem se expandido, pela caracterização de diversas proteínas capazes de ligar as duas (CATANZARO, 2005). O receptor manose-6-fosfato (M6P) está envolvido na captação de renina e pró-renina para dentro das células (SARIS *et al.*, 2001) e encontra-se diretamente ligado à proteína G (SARIS *et al.*, 2002). Não apenas liga pró-renina e renina, mas participa do transporte de proteínas contendo resíduos M6P. Apenas renina e pró-renina glicosiladas são ligadas por esse receptor, cuja ligação é seguida por internalização e ativação de clivagem proteolítica e degradação subsequente imediata. O M6P representa um mecanismo de *clearance*.

Um receptor de renina específico humano foi recentemente identificado por clonagem (CAREY; SIRAGY, 2003; NGUYEN *et al.*, 2002). Altos índices de

expressão são detectados no coração, cérebro e placenta em nível de RNAm, enquanto outros mais baixos são verificados nos rins e fígado (NGUYEN *et al.*, 2002). Essa proteína de membrana liga ambas, renina e pró-renina, e mostra função dupla (NGUYEN; BURCKLE; SRAER, 2004). Primeiro, a ligação de pró-renina ativa efeitos celulares que são independentes da geração de AngII, por ativar quinases proteínicas mitógenos ativadas (MAP) e quinases reguladas por sinal extracelular (ERK). Segundo, age como co-fator, por aumentar a eficiência de geração de AngI na superfície celular pela renina e pró-renina ligada ao receptor.

Na regulação do SRA clássico está bem estabelecido que a pró-renina representa o precursor inativo da renina, que não se auto-ativa proteoliticamente. Esse fenômeno é atribuído ao pró-segmento, com seus 43 resíduos presos ao terminal NH₂ da renina, que impede a interação com o angiotensinogênio e a clivagem de AngI. Enquanto estudos iniciais *in vitro* sugeriram que a pró-renina pode ser ativada por endopeptidases, tais como tripsina e catepsina B, ou por mecanismos não proteolíticos, como pH baixo (SUZUKI *et al.*, 2003), os mecanismos envolvidos na ativação da pró-renina *in vivo* e seu papel fisiológico ainda não estão completamente caracterizados (SUZUKI *et al.*, 2003).

Mais recentemente, pesquisas usando anticorpos específicos revelaram que existe uma região essencial na região NH₂ terminal da pró-renina, a qual é responsável por uma forma de ativação não proteolítica (SUZUKI *et al.*, 2003). Essas descobertas dão luz às observações iniciais de um papel funcional independente para a pró-renina. Agora que os mecanismos de ativação não proteolítica da pró-renina parecem ter sido decifrados, isto poderia finalmente solucionar a controvérsia de elevados níveis de pró-renina e fenótipos cardiovasculares não apenas nos rins, mas também em outros órgãos, como o coração (PETERS *et al.*, 2002). O mecanismo proposto poderia ser a base para o entendimento desses fenômenos e promover novos entendimentos da função do SRA intracelular e sua independência da regulação da renina ativa no plasma.

1.2.3 ECA E ECA2

É bem conhecido o papel de destaque da ECA no SRA clássico e, conseqüentemente, na regulação da pressão arterial, homeostase de volume,

função vascular e crescimento celular. Apesar da ECA ter potencial para hidrolisar muitas proteínas, ela é mais apreciada por processar AngI para AngII. Ela também hidrolisa bradicinina, que tem efeitos hipotensores e pode também agir como reguladora da função cardíaca (RASTALDO *et al.*, 2001). Curiosamente, a ECA hidrolisa bradicinina mais prontamente que AngI. Portanto, seu papel fisiológico final é aumentar a produção de um vasoconstritor e reduzir a disponibilidade de um vasodilatador.

A ECA é localizada primariamente (>90%) nos tecidos e órgãos, dentro do endotélio e parênquima, além de células inflamatórias (PAGLIARO; PENNA, 2005).

Recentemente, um novo papel funcional da ECA envolvendo sinalização intracelular, *outside-in*, foi identificado por Fleming *et al.* (KOHLESTEDT *et al.*, 2004). Por esse mecanismo, a bradicinina e os inibidores de ECA (iECAs) ativam diversas quinases que podem regular a síntese protéica. Podem aumentar a fosforilação mediada pela caseína quinase 2 (CK2) da serina (Ser 1270) no terminal carboxi da ECA. A fosforilação da Ser 1270 da ECA aumenta a atividade da quinase quinase 7 proteína mitógeno ativada (MKK7) e quinase NH2 terminal c-Jun (JNK), que fosforila c-Jun. C-Jun-p é então translocada para o núcleo e é aumentada a expressão de ECA, COX-2 e talvez de outros genes. Essa via de sinalização *outside-in* pode também explicar os aumentados níveis de prostaciclina (PGI₂) após inibição da ECA. Devido a essa sinalização intracelular, a ECA pode ser adicionada à classe das chamadas proteínas de superfície celular não receptoras (FIG. 9).

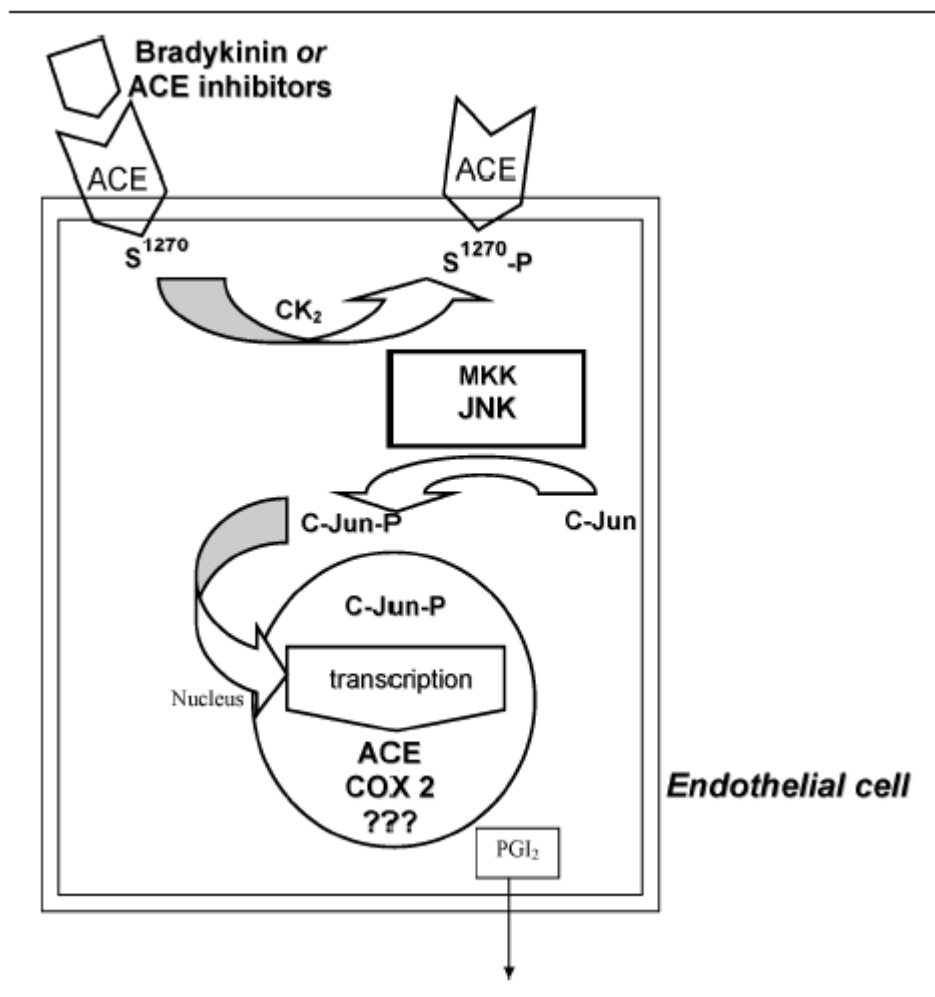


FIGURA 9 - Fenômeno *outside-in* da ECA.

Fonte: Pagliaro e Penna (2005).

A ECA2 é um homólogo da ECA (TIPNIS *et al.*, 2000), capaz de produzir angiotensinas, que podem ter propriedades vasodilatadoras. A ECA age como uma dipeptidilpeptidase, enquanto a ECA2 age como carboxipeptidase. No homem, aquela reside no cromossoma 17 e o gene desta última localiza-se no cromossoma X (DONOGHUE *et al.*, 2000). A ECA2 está envolvida na geração de angiotensinas alternativas, em particular a conversão de AngII para Ang-(1-7) e Ang I para Ang-(1-9). Assim, enquanto a ECA gera AngII de AngI a partir da clivagem do decapeptídeo His-Leu COOH terminal, a ECA 2 catalisa a conversão de AngII para Ang-(1-7) por remover o aminoácido fenilalanina COOH terminal. Em adição, ela pode clivar o resíduo do decapeptídeo COOH terminal de ANG I, gerando o nonapeptídeo ANG-(1-9), que pode ser subsequenteemente convertido

para ANG-(1-7) pela ECA. E pode também clivar Des-Arg (9)-bradicinina, mas não hidrolisa bradicinina, e é insensível aos inibidores de ECA (VICKERS *et al.*, 2002).

A literatura referencia que a ECA2 é importante como regulador da função e desenvolvimento cardíaco (CRACKOWER *et al.*, 2002). A expressão de ECA2, no homem, já foi demonstrada nos vasos sanguíneos cardíacos, epitélio tubular dos rins, epitélio dos pulmões e intestino delgado (HAMMING *et al.*, 2004). A ECA2 pode agir como um regulador *feedback* negativo tecido específico do SRA ativado. Assim, ECA e ECA2 teriam efeitos fisiológicos opostos.

Interessantemente, a ECA2 é um receptor funcional para o coronavírus associado à síndrome respiratória aguda, isto é, SARS-CoV (LI *et al.*, 2003). A ECA2 protege contra a lesão pulmonar causada pelo SARS-Cov e outros agentes (IMAI *et al.*, 2005).

Alguns autores propõem que a função de ECA2 pode não se limitar ao SRA. De fato, ela pode clivar o resíduo c-terminal de diversos outros peptídeos, tais como as apelinas, grelina, des-Arg bradicinina, β -casamorfina, neurotensinas e dinorfina A1-13 (TAB. 3) - (PAGLIARO; PENNA, 2005).

QUADRO 1
Substratos da ECA2

Substrates	Amino acid cleaved (three letters code)	Degree of hydrolysis	Receptors	Physiological functions of substrates and/or products
Angiotensin I	Leu	Partial	AT ₁ , AT ₂	Vasoconstriction?
Angiotensin II	Phe	Complete	AT ₁ /AT ₂	Vasoconstriction/vasodilation proliferation/ antiproliferation hypertrophy/ apoptosis
Angiotensin IV	Phe	Complete	AT ₄	Vascular remodeling, memory
Apelins (13 or 36)	Phe	Complete	APJ (AT ₁ -like)	Vasoconstriction, vasodilation, water intake, Inotropy/inactive product
des-Arg bradykinin	Phe	Complete	B ₁	Tissue injury/inflammatory responses/inactive product
Dynorphin A ₁₋₁₃ .	Lys	Complete	κ and δ	May have negative effects on contractility
β -casamorphin	Ile	Complete	κ and δ	May have negative effects on contractility
Neurotensin ₁₋₈	Arg	Partial	κ and δ	Pain perception, cardiodepression
Ghrelin	Arg	Partial	GHS-R	Inotropic, vasodilator and protective

Fonte: Pagliaro e Penna (2005).

Duas formas de apelinas (13 e 36) foram recentemente identificadas como ligantes endógenas para o receptor orfan APJ, o qual tem homologia com o receptor AT1 (TALEMOTO *et al.*, 2001). A apelina tem efeito diurético e tem sido encontrada no núcleo supra-óptico do hipotálamo, onde parece inibir a atividade elétrica dos neurônios liberadores de vasopressina (DE MOTA *et al.*, 2004). Apelinas exercem também atividades inotrópicas positivas e vasodilatadoras dependentes de óxido nítrico (NO). A ANG II pode induzir a liberação de apelina das células endoteliais vasculares (ISHIDA *et al.*, 2004).

Recentemente, um novo inibidor da ECA2 foi revelado (HUANG *et al.*, 2003), cujo uso elucidará melhor a função de ECA2 *in vivo*.

1.2.4 N-ACETIL-SER-ASP-LYS-PRO (AC-SDKP)

Sabe-se que a ECA age em diversos substratos além de Ang I e bradicinina. Um destes, o N-acetil-Ser-Asp-Lys-Pro, é um fator hematopoético que é um substrato natural para o NH₂ terminal da ECA (RIEGER *et al.*, 1993). A quebra do ac-SDKP pode ser bloqueada pelo tratamento com inibidor de ECA, resultando em aumento nos seus níveis plasmático. A medida de Ac-SDKP pode ser um marcador para a eficiência clínica da inibição da ECA (AZIZI *et al.*, 1997). No sistema hematopoético, a Ac-SDKP age no ciclo celular e impede a ativação das células-tronco pluripotentes (AZIZI *et al.*, 1996) e níveis elevados de Ac-SDKP e associa-se à anemia em pacientes com insuficiência cardíaca tratados com inibidores de ECA (VAN DER MEER *et al.*, 2005). Embora a relevância para o sistema cardiovascular permaneça pouco clara, dados acumulados atribuem papel funcional para o Ac. SDKP (WANG *et al.*, 2004). Essas funções poderiam incluir a estimulação de angiogênese e particularmente efeitos antifibróticos, que poderiam destacar possíveis efeitos no reparo e remodelamento do sistema cardiovascular e rins.

1.2.5 Quimase

Uma serina protease formadora de AngII chamada quimase do coração humano tem sido considerada um ativador na via alternativa de formação de AngII no coração (URATA; NISHIMURA; GANTEN, 1996; PINTO *et al.*, 1998). Ela não é afetada por inibição de ECA e é relevante para a via alternativa de geração de AngII. Embora diversas outras enzimas alternativas envolvidas na formação de AngII tenham sido descritas previamente, tais como catepsina e tonina, a quimase desperta atenção especial devido à sua alta especificidade pelo substrato. Essa enzima é também expressa na parede vascular, onde participa da arterioesclerose mediada por AngII (ARAKAWA; URATA, 2000; WEISS; SORESCU; TAYLOR, 2001).

1.2.6 Receptores de angiotensinas

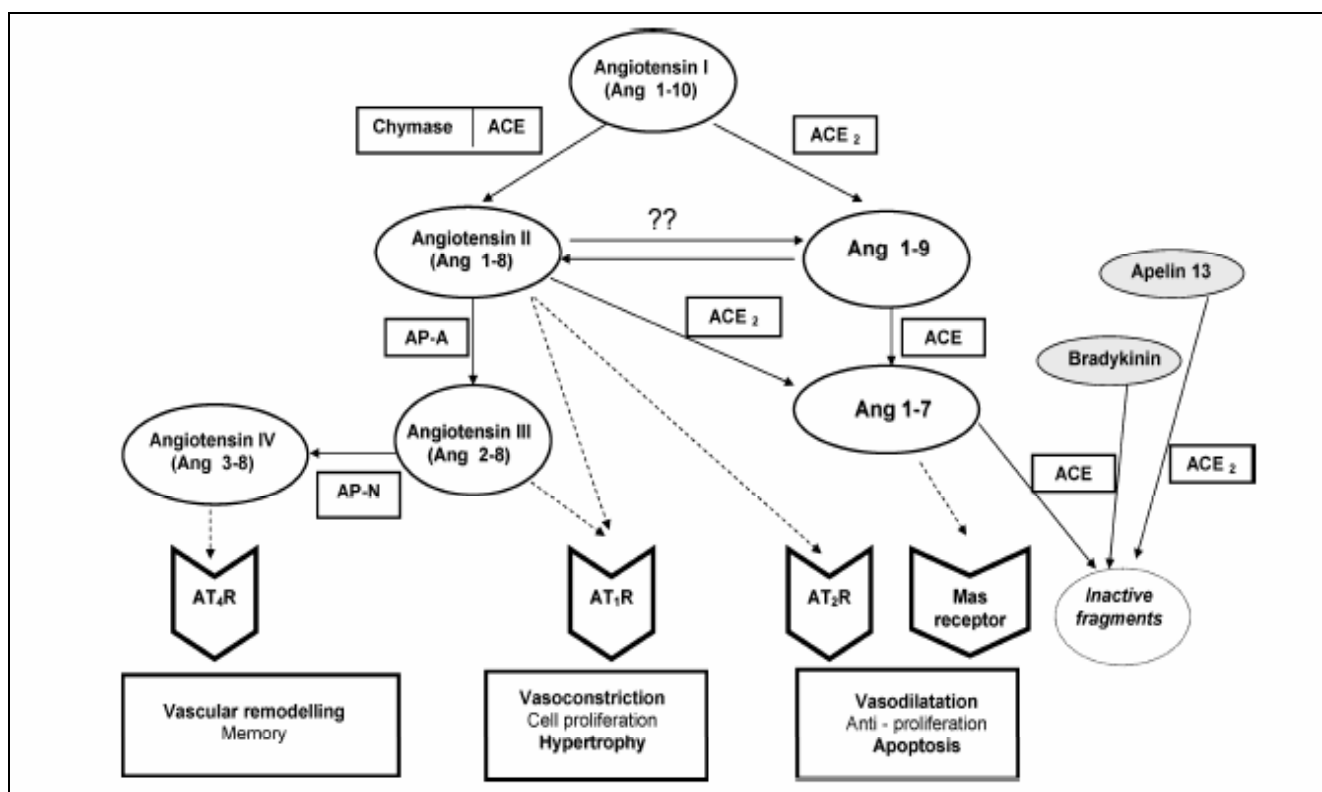


FIGURA 10 - Receptores de angiotensinas.

Fonte: Pagliaro e Penna (2005).

As ações de AngII são mediadas predominantemente por dois receptores, AT1 e AT2 (TIMMERMANS *et al.*, 1991; 1993), mostrando um complexo padrão de regulação e função (DE GASPARO *et al.*, 2000). Enquanto a maioria das ações bem conhecidas da AngII, tais como vasoconstrição e liberação de aldosterona, é mediada pelo receptor AT1, o AT2 é um enigma (GALLINAT *et al.*, 2000; UNGER, 1999). Ele parece ter papel funcional importante no desenvolvimento prenatal e, no adulto, ações mediadas por este receptor têm se mostrado contrárias aos efeitos de AT1 (STOLL *et al.*, 1995). Cada vez mais é reconhecido o papel do AT2, particularmente na regulação do crescimento, diferenciação e regeneração do tecido neural.

A existência de um receptor de angiotensina adicional denominado AT4 tem sido proposta, o qual interage com AngIV ou Ang-(3-8) - (SWANSON *et al.*, 1992). Assim, o receptor AT4 foi originalmente definido como específico, local de ligação de alta afinidade para o hexapeptídeo AngIV.

Dois novos mecanismos de ligação ao receptor de angiotensina levando a efeitos contrastantes têm sido recentemente demonstrados. Primeiro, o receptor AT2 pode se ligar diretamente ao receptor AT1 e antagonizar sua função. Segundo, autoanticorpos em mulheres com pré-eclâmpsia ativam o receptor AT1 (DECHEND *et al.*, 2005).

O protooncogene Mas é caracterizado como um receptor acoplado à proteína G (SANTOS *et al.*, 2003) originalmente descrito como um fator envolvido em tumorigenese. O Mas é um receptor funcional de angiotensina (JACKSON *et al.*, 1988), hipótese que tem mudado desde que a ligação de AngII a células expressando Mas não pôde ser demonstrada, sugerindo que ele está apenas indiretamente envolvido no sinal de transdução de AngII. Experimentos em ratos *knockout* para Mas mostraram interação funcional entre Mas e o receptor AT1 (VON BOHLEN *et al.*, 2000). Essa interação pode ser atribuída à heterooligomerização entre Mas e AT1, levando à inibição dos efeitos mediados por AT1 (KOSTENIS *et al.*, 2005). Permanece por ser determinado, contudo, se os efeitos propostos mediados por Ang-(1-7) ou outras angiotensinas via Mas podem ter relevância funcional *in vivo*.

1.2.7 Angiotensinas biologicamente ativas

A angiotensina II é considerada o principal peptídeo biologicamente ativo do SRA. Periféricamente, exerce sua conhecida ação vasoconstritora, promovendo o aumento da resistência periférica total, enquanto em nível renal promove a reabsorção do sódio por ação direta ou via liberação de aldosterona. Desta forma, participa da regulação do balanço hidroeletrólítico e, conseqüentemente, auxilia na manutenção do volume extracelular (HALL, 1986). Outra ação importante é sua interação com o sistema nervoso simpático (SNS) que, por sua vez, pode motivar a facilitação adrenérgica com conseqüente liberação de vasopressina. Essa ação pode promover a manutenção ou aumento do volume extracelular, bem como o aumento da resistência periférica total. Sob o coração, essa facilitação resultará em aumento da contratilidade, com conseqüente aumento do débito cardíaco. Exerce também inibição central sobre os reflexos comandados pelos barorreceptores (CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1992). Em nível central, a Ang II possui também ação dipsogênica, participa dos mecanismos centrais de regulação cardiovascular, controla e modula a ação de hormônios adeno e neuro-hipofisários (ACTH, LH, prolactina e vasopressina) e controla a ingestão de sódio (DZAU; PRATT, 1986). Essas ações são mediadas via receptores AT₁.

Várias outras funções dessa angiotensina relacionadas com o sistema cardiovascular têm sido propostas. Assim, a angiotensina II participa também dos processos de remodelamento vascular tanto por atuar como fator de crescimento, induzindo a síntese de fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e fator de crescimento e transformação do tipo beta1 (TGF- β_1), quanto como agente antiapoptótico, retardando a morte celular (POLLMAN *et al.*, 1996) via receptores AT₂. Vários estudos têm mostrado a importância da angiotensina II no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca (GIBBONS; DZAU, 1994). A sua ação trófica parece também ter papel relevante no desenvolvimento das lesões renais associadas à doença hipertensiva (FIG. 10).

Vários estudos têm mostrado que a Ang-(1-7) é um peptídeo biologicamente ativo (FERRARIO *et al.*, 1997; 1998a; KUCHARWICZ *et al.*, 2002; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000) e possui

seletividade angiotensinérgica particular (BROSNIHAN *et al.*, 1988; DIZ; PIRRO, 1992; FERRARIO *et al.*, 1990; SANTOS *et al.*, 1994) - (FIG. 10).

O heptapeptídeo Ang-(1-7) pode ser originado tanto pela hidrólise da Ang I a partir das enzimas prolil-endopeptidase e/ou endopeptidase neutra quanto pela hidrólise da Ang II pela prolil-endopeptidase e/ou carboxipeptidases (GREENE *et al.*, 1982). A hidrólise da Ang-(1-7) por aminopeptidases resulta na síntese de peptídeos como a Ang-(2-7) e a Ang-(3-7). Já a hidrólise pela ECA gera a síntese da Ang-(1-5) - (CHAPELL *et al.*, 1998; DEDDISH *et al.*, 1998; WELCHES *et al.*, 1991). Os mecanismos farmacológicos e os receptores envolvidos nos efeitos de Ang-(1-7) são diversos. Primeiro, porque Ang-(1-7) é substrato para ECA, ela age como um inibidor de ECA. Segundo, Ang-(1-7) é um antagonista de receptor AT1, mas em doses mais altas são observados efeitos agonistas em AT1. Terceiro, existe alguma evidência para um efeito agonista de Ang-(1-7) no receptor AT2, embora o principal receptor para Ang-(1-7) parece ser o receptor Mas. A partir da estimulação do receptor Mas, Ang-(1-7) potencializa efeitos induzidos pela bradicinina, estimula a liberação de prostanoídes e libera óxido nítrico (VAN DER WOUDE *et al.*, 2006).

A primeira demonstração de que a Ang-(1-7) teria função biológica foi realizada por Schiavone *et al.* (1981), em nível cerebral, mostrando que esse peptídeo era tão potente quanto a Ang II em liberar vasopressina de explantes hipotálamo-neuro-hipofisários. Desde então, muitos trabalhos têm demonstrado a sua ação biológica e sua seletividade angiotensinérgica própria (AVERILL; DIZ, 1999; BROSNIHAN *et al.*, 1988; CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1992; FERRARIO *et al.*, 1998b; 1990; SANTOS *et al.*, 1994; 1996; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000).

A seletividade da Ang-(1-7) se deve à ausência do aminoácido fenilalanina (Phe) na posição C-terminal (KHOSLA; SMEBY; BUMPUS, 1974). No passado, acreditava-se que a presença de Phe era essencial para desencadear respostas biológicas (PAGE, 1987) e, conseqüentemente, que os fragmentos aminoterminais da Ang II eram de sua degradação. A importância dessa Phe na posição C-terminal pode ser ilustrada pela ausência dos efeitos pressor e dipsogênico após a administração periférica ou intracérebro-ventricular da Ang-(1-7) - (BROSNIHAN *et al.*, 1988; CAMPAGNOLE-SANTOS *et al.*, 1992; FERRARIO *et al.*, 1988; KONO *et al.*, 1986).

A primeira evidência de uma ação biológica da Ang-(1-7) *in vivo* surgiu em nível central com os estudos de Campagnole-Santos *et al.* (1989) e Campagnole-Santos, Diz e Ferrario (1990), nos quais a microinjeção dessa angiotensina na porção dorsomedial do bulbo produziu hipotensão e bradicardia. Essas alterações hemodinâmicas foram similares à de doses equivalentes de Ang II.

Averill e Diz (1999) observaram que centralmente a Ang-(1-7) pode agir como importante neuromodulador, especialmente nas áreas bulbares relacionadas com o reflexo tônico do controle da pressão arterial.

Periféricamente, já foram identificadas as seguintes ações para essa angiotensina: atividade antidiurética (independente de vasopressina) potente em ratos submetidos à sobrecarga hídrica, aumento da reabsorção de água em túbulos proximais e ductos coletores intramedulares, reabsorção de líquido, potássio e sódio após aplicação intratubular dessa angiotensina, atividade natriurética em animais anestesiados com denervação renal, fraca atividade vasodilatadora e potente atividade potenciadora da bradicinina (ABBAS *et al.*, 1997; PAULA *et al.*, 1995; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000). O efeito potenciador da bradicinina desencadeado por essa angiotensina pode ser visto como um importante ponto de cruzamento entre os sistemas renina-angiotensina e calicreína-cininas (FIG. 11). Parece que tal ação envolve a liberação de prostaglandinas e óxido nítrico já vista em ratos e cães (LI *et al.*, 1997). A interação Ang-(1-7)/bradicinina pode ter implicações importantes, especialmente em vigência do tratamento com inibidores da ECA. Sugere-se que os inibidores de ECA não só facilitam o acúmulo de bradicinina formada localmente como também afetam diretamente a sinalização intracelular dos receptores B₂ da bradicinina, que resultam em aumento da resposta vascular à bradicinina. Existem várias evidências de que as ações dessa angiotensina sejam mediadas por receptores específicos (FIG. 11).

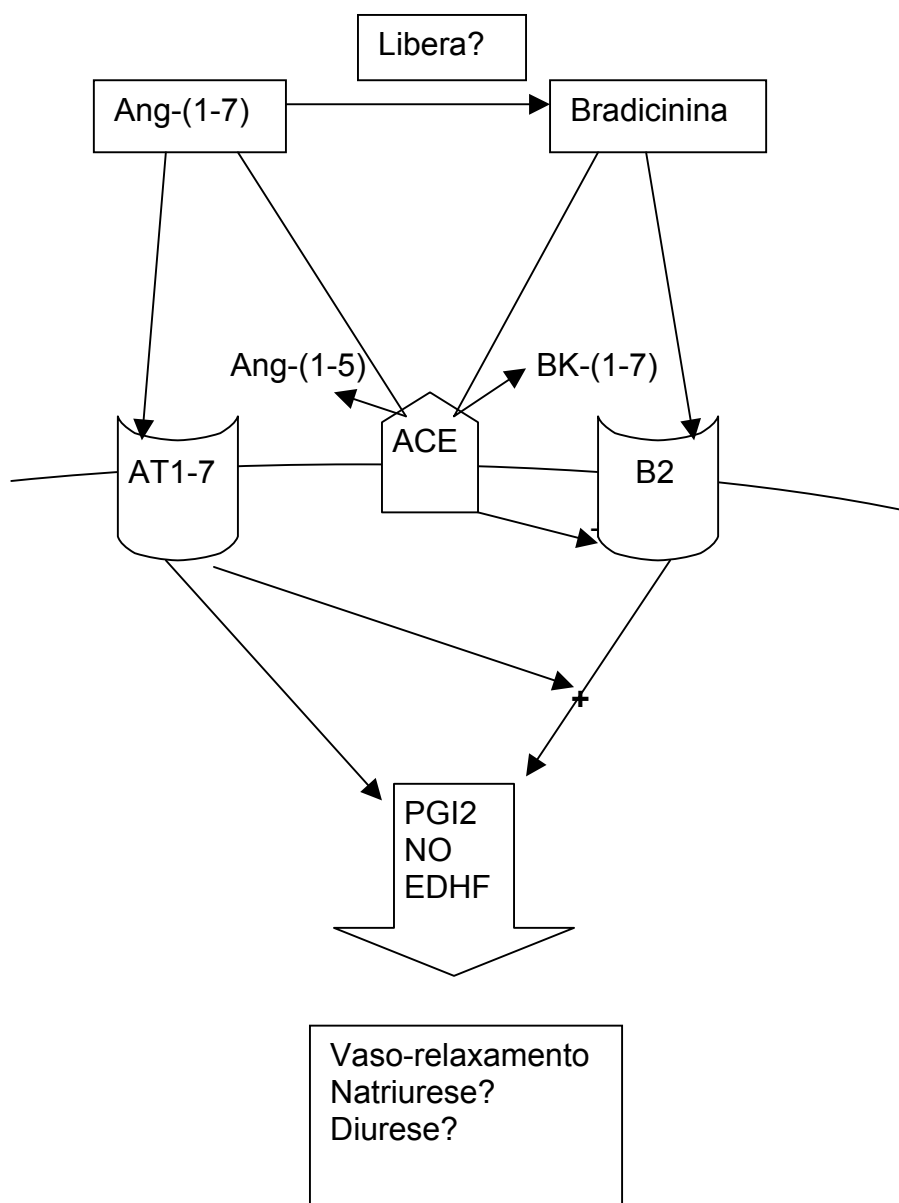


FIGURA 11 - Interação da bradicinina e Ang-(1-7).

ACE:enzima conversora de angiotensina, AT1-7:receptor seletivo de Ang-(1-7), B2:receptor tipo 2 de bradicinina.

A Ang III [Ang-(2-8)] é formada pela clivagem da Ang II, por aminopeptidases. A Ang III possui fraca ação vasoconstritora periférica, porém centralmente se mostrou equipotente à Ang II em estimular a atividade neuronal e em produzir respostas pressora e dipsogênica. No nível da adrenal, é tão potente quanto a Ang II em estimular a liberação de aldosterona *in situ* e *in vivo* (BRASZKO *et al.*, 1991; HARBERL; DECKER; EINHAUPL, 1991).

A Ang IV-Ang-(3-8) identificada está relacionada com a função vascular, proliferação celular e memória. Foi descrito aumento do fluxo sanguíneo no córtex renal após a infusão de Ang IV pela artéria renal e vasodilatação endotélio-dependente em arteríolas cerebrais após a aplicação tópica dessa angiotensina. Em culturas de miócitos cardíacos, a Ang IV parece antagonizar os efeitos tróficos da Ang I por mecanismos não relacionados à competição por receptores do subtipo AT₁. A infusão intracérebro-ventricular da Ang IV em ratos produz a facilitação da memória de retenção. Seus efeitos são provavelmente mediados por receptores específicos (BADER *et al.*, 1994) - (FIG. 10).

1.2.8 SRA cardíaco

A existência e função do SRA cardíaco foram objeto de debate durante um tempo, por ser difícil diferenciar os efeitos da geração de ANG II intracardíaca das ações da ANG II originária do plasma. Contudo, as ações cardíacas das drogas inibindo as ações de ANG II, tais como inibidores de ECA ou de receptor de ANG II, são em parte explicadas por efeitos em nível celular, por exemplo, o remodelamento cardíaco, indicando a presença de um SRA tecidual cardíaco (FIG. 12). O papel fisiológico do SRA cardíaco parece ser a manutenção de um equilíbrio na indução e inibição do crescimento e proliferação celular, bem como a mediação de respostas adaptativas no estresse miocárdico (PAUL; MEHR; KREUTZ, 2006).

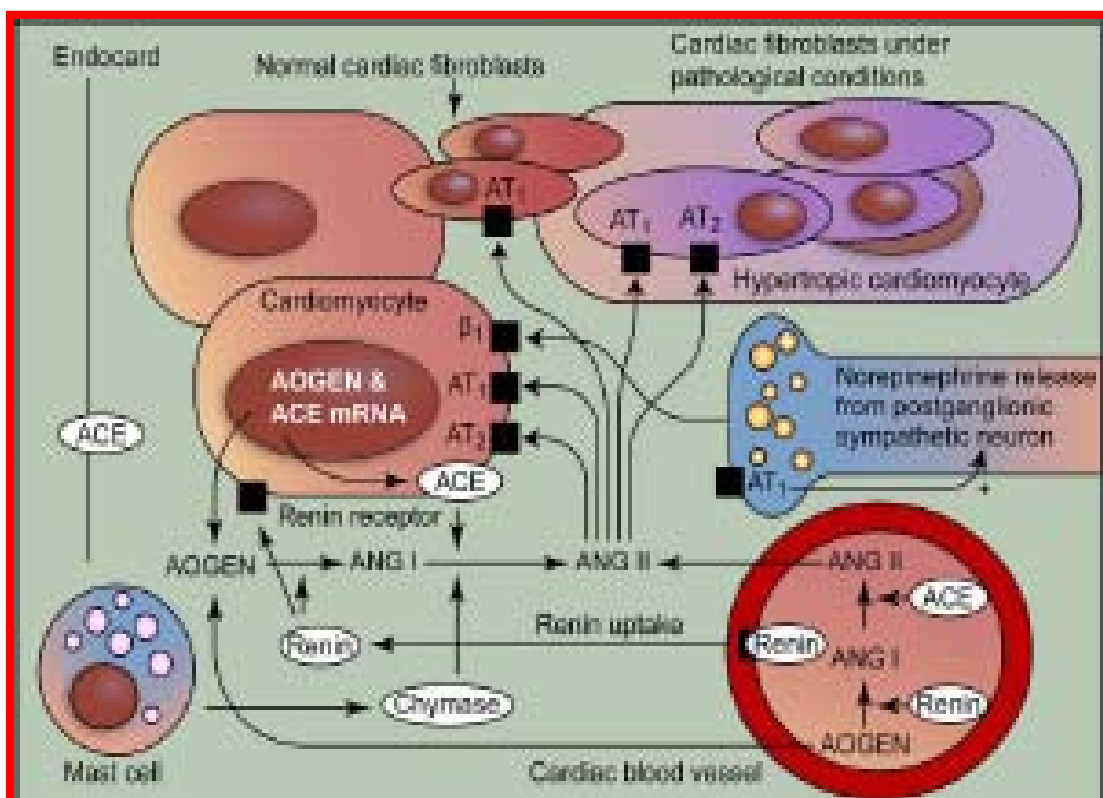


FIGURA 12 - SRA cardíaco.

Fonte: Paul, Mehr e Kreutz (2006).

A existência e importância da expressão de renina cardíaca tem sido objeto de controvérsias, embora alguns investigadores tenham sido capazes de detectar RNAm da renina no coração por vários métodos (DZAU *et al.*, 1987). No mínimo, em algumas espécies, o coração é um sítio de produção de renina extra-renal (PINTO *et al.*, 1997). Outros autores têm sugerido que enquanto a renina não é sintetizada no coração em condições fisiológicas, a expressão do gene da renina pode ser desencadeada em situações fisiopatológicas (DE MELLO; DAUSER, 2000).

Menos controversa é a presença da renina no coração atribuída à captação da circulação, tanto captação não específica (difusão) dentro do interstício celular, quanto por ações de sítios ligantes específicos ou receptores de renina e pró-renina (NGUYEN; BURCKLE; SRAER, 2004).

A produção local de ECA no coração, em contraste com a renina, não tem divergências. A expressão de ECA2 tem também sido demonstrada no coração de animais e do homem (GOULTER *et al.*, 2004).

A quimase cardíaca humana ativa AngI para AngII, mas não é inibida por iECAs e pode agir como ativador para a formação de AngII por via alternativa. Apesar da atividade da quimase predominar sobre a atividade da ECA no coração humano, contribuindo para níveis finais totais muito mais altos de AngII, sua importância funcional no coração permanece questionável (URATA *et al.*, 1990).

A detecção de RNAm de angiotensinogênio no coração foi descrita no homem. Embora os níveis de RNAm de angiotensinogênio cardíaco sejam mais prontamente detectados que aqueles da renina, eles são baixos quando comparados com os encontrados no fígado, a maior fonte de produção de angiotensinogênio (DZAU *et al.*, 1987). Parece que a maior parte do angiotensinogênio cardíaco é devida à captação no plasma.

As angiotensinas estão presentes no coração em concentrações muito mais altas que as encontradas no plasma. Isso pode ser visto como um indicador de síntese cardíaca, mas a captação cardíaca e o estoque local de AngII devem ser considerados. Alternativamente, renina e angiotensinogênio captados da circulação podem interagir com a ECA local e levar à formação de AngII (VAN KATES *et al.*, 1998).

Ambos os receptores, AT1 e AT2, são expressos no coração, localizados nos cardiomiócitos (URATA *et al.*, 1990). Nos fibroblastos cardíacos, a população de receptores parece ser dependente da presença ou ausência de doença cardíaca. Fibroblastos normais expressam apenas AT1, mas podem recrutar o receptor AT2 sob certas condições anormais (SENBONMATSU *et al.*, 2000).

1.2.8.1 Funções do SRA cardíaco

- Efeitos inotrópicos

A AngII possui efeito inotrópico positivo, agindo indiretamente no sistema nervoso simpático ou diretamente, provavelmente pela entrada de cálcio e mudanças na fase de platô do potencial de ação da fibra cardíaca (PAUL; MEHR; KRAUTZ, 2006).

- Efeitos hipertróficos

A AngII medeia a hipertrofia do miócito a partir da ativação do receptor AT1 como uma resposta adaptativa ao estresse miocárdico aumentado. Enquanto a hipertrofia dos cardiomiócitos age inicialmente como um mecanismo compensatório para preservar a função cardíaca, ela torna-se depois o principal fator de risco de insuficiência cardíaca congestiva e morte súbita (DZAU *et al.*, 2001). Os efeitos de hipertrofia cardíaca da AngII ocorrem independentemente dos seus efeitos na pressão arterial, sugerindo um papel funcional do SRA cardíaco local em mediar essas mudanças. As mudanças hipertróficas induzidas pela AngII são mediadas por diversas vias intracelulares distintas, tais como a ativação da tirosina quinase e outras (DE GASPARO *et al.*, 2000). Uma consequência da hipertrofia ventricular esquerda é a disfunção diastólica que resulta de mudanças funcionais, tais como manipulação diastólica de cálcio reduzida e/ou mudanças estruturais, como fibrose cardíaca (CINGOLANI *et al.*, 2004). Cronicamente, a ativação do SRA cardíaco pode não só levar à hipertrofia cardíaca e disfunção diastólica, mas também à progressiva disfunção sistólica, aumento da área cardíaca e insuficiência cardíaca.

- Estiramento mecânico

O estiramento pode induzir a liberação de AngII na média de cardiomiócitos *in vitro* e *in vivo* e virtualmente a expressão de todos os genes do SRA pode ser estimulada pelo estiramento (MALHOTRA *et al.*, 1999). Inicialmente, considerou-se que esses efeitos eram inteiramente mediados pelo receptor AT1, mas estudos *knockout* de AT2 em ratos já revelaram que esse receptor está também envolvido nessas mudanças.

- Remodelamento

Os mecanismos levando à fibrose induzida por AngII parecem ser parcialmente mediados através de vias de fator de crescimento induzidas por ativação do receptor AT1 (SUN *et al.*, 1997).

- Fisiologia elétrica cardíaca

Além das anormalidades estruturais relacionadas à ativação do SRA cardíaco, a atividade aumentada do sistema também está ligada a mudanças da fisiologia elétrica que levam a arritmias ventriculares e atriais (HEALEY; MORILLO; CONNOLLY, 2005). Recentes estudos de intervenção farmacológica destacam novo conceito no qual a inibição do SRA pelos inibidores de ECA ou antagonistas de AT1 pode induzir benefícios em pacientes com fibrilação atrial (GOETTE; LENDECKEL, 2004).

- Apoptose

Acredita-se que o apoptose de miócitos cardíacos é mediado via receptor AT1 (CIGOLA *et al.*, 1997).

1.2.9 SRA vascular

A parede vascular é o órgão efetor para o SRA hormonal ou plasmático, onde os receptores localizados nas células musculares lisas medeiam vasoconstrição. O conceito de SRA vascular foi criado quando se tornou evidente que a AngII pode afetar propriedades de crescimento das células vasculares e que os componentes do SRA podem ser formados intracelularmente nos vasos. Como no caso da renina cardíaca, existem dúvidas sobre a produção local de renina nos vasos. E tem sido proposto que a síntese de renina local vascular é negligenciável sob circunstâncias fisiológicas, sendo possível que sua produção seja ativada nas doenças (VON LUTEROTTI *et al.*, 1994).

A ECA é detectada na parede vascular, predominantemente na superfície das células endoteliais (FALKENHAHN *et al.*, 1995).

A expressão de RNAm de ECA2 é encontrada nas células endoteliais venosas e arteriais e nas células musculares lisas em vários órgãos (HAMMING *et al.*, 2004).

Angiotensinogênio, AngI e AngII têm sido detectados nos vasos sangüíneos em nível de RNAm (PAUL; MEHR; KRAUTZ, 2006).

Ambos os receptores, AT1 e AT2, foram identificados nos vasos sanguíneos.

1.2.9.1 Funções do SRA vascular

- Função endotelial e tônus vascular

O SRA vascular contribui para a manutenção da homeostasia cardiovascular pelo duplo impacto na função vascular mediada pelos efeitos opostos dos seus dois receptores (AT1, AT2). Estudos *in vivo* não conseguem separar efeitos mediados por AngII gerada no plasma de AngII gerada dentro da parede vascular. Em resposta à AngII gerada tanto local como sistemicamente, o receptor AT1 medeia a resposta contrátil por mecanismos dependentes da fosfolipase C, levando ao aumento de cálcio intracelular (DE GASPARO *et al.*, 2000). Este também age indiretamente, estimulando a síntese de outros vasoconstritores, tal como a endotelina (ROSSI *et al.*, 1999). Em contrapartida, a ativação de AT2 resulta em ativação de fosfatases, revertendo, portanto, os efeitos mediados por Ang II ligada ao AT1. Assim, o receptor AT2 parece mediar mecanismos que contra-regulam e impedem a ocorrência de mudanças vasculares anormais (WIDDOP *et al.*, 2003).

O papel funcional do receptor AT2 foi primariamente visto durante o desenvolvimento fetal, período no qual ele é altamente expresso (UNGER, 1999). Subseqüentemente, o reaparecimento de AT2 no organismo adulto foi associado a eventos patogênicos que podem ser vistos como reprogramação fetal. Isto, contudo, não exclui a possibilidade de AT2 ter importante papel na regulação do tônus vascular e pressão sanguínea em condições fisiológicas (BATENBURG *et al.*, 2005). O efeito vasodilatador mediado pelo receptor AT2 parece ser primariamente atribuído à ativação direta da via óxido nítrico (NO)-GMPc, enquanto a ativação indireta de óxido nítrico via bradicinina e receptores B2 como mediadores da vasodilatação induzida por AT2 está menos estabelecida (BATENBURG *et al.*, 2005). A AngII, portanto, é capaz de aumentar a disponibilidade de NO pela ativação da via NO-GMPc a partir de AT2 e reduzir a disponibilidade de NO, por promover estresse oxidativo através do receptor AT1

(SCHULMAN; ZHOU; RAY, 2005). A AngII exerce papel importante em modular o equilíbrio entre NO e ROS (espécies de oxigênio reativo) no endotélio e, assim, manter a homeostase da parede vascular.

Diversos estudos têm mostrado que os vasos sanguíneos são importante local para a formação e as ações biológicas de Ang-(1-7). Além da potenciação da bradicinina, a Ang-(1-7) promove a liberação de prostanóides do endotélio e células musculares lisas, liberação de NO, vasodilatação, inibição do crescimento celular vascular e, menos freqüentemente, vasoconstrição. A atenuação do efeito vasoconstritor da AngII se dá em resposta à Ang-(1-7) (SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000).

- Remodelamento tecidual

Além do bem estabelecido efeito de longo prazo do SRA no remodelamento vascular, que é mediado por efeitos proliferativos nas células musculares lisas e fibroblastos, a produção de espécies de oxigênio reativas em resposta à AngII constitui importante mecanismo ligando a ativação do SRA a eventos como inflamação, aterosclerose, hipertrofia, remodelamento e angiogênese (SCHULMAN; ZHOU; RAY, 2005). Nessa ação biológica, AngII e Ang-(1-7) mostram efeitos opostos. Enquanto a Ang II é um fator proliferativo positivo, a Ang-(1-7) é um peptídeo antiproliferativo. E a resposta antiproliferativa de Ang-(1-7) parece ser mediada em nível de receptor por um subtipo diferente dos receptores AT1 e AT2 (SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000).

1.3 SRA e cirrose

O SRA tem importantes participações no desenvolvimento e evolução clínica da cirrose hepática. No seu desenvolvimento, parece participar da indução da fibrose (BATALLER; BRENNER, 2005), que acaba por levar à hipertensão portal e, na fase clínica ascítica, parece ser responsável pela manutenção do tônus vascular basal dos pacientes (HELMY *et al.*, 2000).

A fibrose hepática é caracterizada pela deposição de matriz extracelular, principalmente colágeno fibrilar, com a substituição de hepatócitos normais. A progressão para a fibrose induz disfunção hepatocelular e hipertensão portal por aumentar a resistência intra-hepática. Células estreladas hepáticas com propriedades contráteis e fibrogênicas são o principal local de produção de matriz extracelular (GEERTS, 2001). Essas células são estimuladas por citocinas fibrogênicas, uma das quais é a AngII (BATALLER *et al.*, 2000).

O papel do SRA é comprovado pela observação de que antagonistas do receptor AT1 atenuam a progressão da fibrose e reduzem a pressão portal em modelos animais (BATALLER; BRENNER, 2001; PAIZIS *et al.*, 2002). A Ang1-7 parece exercer proteção na fibrose hepática experimental (PEREIRA *et al.*, 2007). Em humanos, também já se demonstrou a inibição do SRA a partir do uso de antagonistas de AT1, alterando significativamente a fibrose hepática (SOOKOIAN; FERNANDEZ; CASTANO, 2005).

Em relação ao uso de antagonistas de AT1 para tratamento de hipertensão portal, os resultados são um pouco controversos, provavelmente refletindo o uso desses medicamentos em fases clínicas diferentes da cirrose. Pacientes cirróticos descompensados não toleram ou toleram pouco o bloqueio do SRA. Já pacientes cirróticos compensados parecem tolerar e podem apresentar bons resultados quanto à redução da pressão portal (DEBERNARDI-VENON *et al.*, 2007), apesar de outros autores, nesta fase clínica, também não terem demonstrado benefício (TRIPATHI *et al.*, 2004).

Em se tratando da participação do SRA na circulação hiperdinâmica da cirrose, há apenas uma sugestão indireta de que a Ang1-7 poderia participar da vasodilatação da cirrose hepática. Paizis *et al.* (2005) encontraram esse dado em um trabalho *in vitro*. A relação de um SRA, não apenas clássico, com a cirrose hepática e sua disfunção circulatória foi o foco de poucos trabalhos, na sua maioria em modelos experimentais animais (HERATH *et al.*, 2007; PAIZIS *et al.*, 2002; 2005; PEREIRA *et al.*, 2007). E o alvo de correlação do SRA com a cirrose é geralmente a fibrose hepática e não sua disfunção circulatória.

Trabalhos que estudam a disfunção circulatória da cirrose e SRA avaliam SRA apenas clássico e têm se voltado mais para a procura de relações com a hipertensão portal e não com a circulação hiperdinâmica da cirrose (DEBERNARDI-VENON *et al.*, 2007; VLACHOGIANNAKOS *et al.*, 2001). Portanto,

o SRA estudado na disfunção circulatória da cirrose hepática humana até o momento é o modelo clássico, ou seja, sistêmico (não tecidual) e com apenas um peptídeo biologicamente ativo final (angiotensina II). O objetivo é estudar a participação do SRA não só sistêmico e endócrino, mas tecidual autócrino/parácrino, modulador de várias funções teciduais, a partir de vários peptídeos biologicamente ativos e suas relações com outros sistemas de peptídeos vasoativos na circulação hiperdinâmica da cirrose hepática, o que permitiria abordagem terapêutica mais direta, detalhada e patogênica, potencialmente mais promissora.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o SRA e o efeito do uso do propranolol oral na cirrose hepática.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o SRA nas fases compensada (pré-ascítica) e descompensada (ascítica) da cirrose hepática a partir dos níveis sanguíneos sistêmicos de renina e angiotensinas [Ang I, Ang II, Ang-(1-7)].
- Caracterizar o SRA plasmático periférico (artéria radial) e esplâncnico (veia porta) nos pacientes cirróticos descompensados.
- Estabelecer a participação do SRA na manutenção da hemodinâmica sistêmica dos pacientes cirróticos descompensados.
- Estabelecer o efeito do uso do propranolol oral pelos pacientes cirróticos no SRA esplâncnico (veia porta) e SRA periférico.
- Estabelecer o efeito do uso do propranolol oral na hemodinâmica sistêmica de pacientes cirróticos descompensados.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Pacientes

3.1.1 Procedência

Os pacientes eram voluntários dos ambulatórios de hepatologia e de transplantes do Instituto Alfa de Gastroenterologia do HC-UFMG. Após aprovação pelo Comitê de Ética (ANEXO A), foram devidamente esclarecidos sobre a pesquisa durante consultas clínicas nesses ambulatórios e, após consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A), submeteram-se à coleta de sangue no tempo programado.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes hipertensos, diabéticos, com doenças auto-imune ou em uso, por qualquer motivo, de inibidores de ECA, antagonistas de receptor de angiotensina AT1, carvedilol e corticóide. Pacientes cirróticos sob transplante hepático, que estavam sendo submetidos à hemodiálise previamente ou faziam uso de substâncias vasoativas durante fase pré-anepática foram também excluídos.

3.1.3 Grupos observacionais

- Grupo 1 - Controles hígidos

Voluntários considerados saudáveis após anamnese e exame físico (n=18 pacientes), pareados por sexo, idade e raça com os demais grupos.

- Grupo 2 - Cirróticos compensados ambulatoriais

Pacientes cirróticos bem compensados são aqueles pré-ascíticos sem evidência clínica de complicação extra-hepática (n=12 pacientes). Em relação à etiologia, quatro pacientes eram portadores de cirrose alcoólica, sete eram de etiologia virótica (quatro vírus C e três vírus B) e um portador de cirrose criptogênica.

Esses pacientes não estavam fazendo uso de medicamentos, exceto três, que usavam espironolactona (25 mg/dia).

- Grupo 3 - Cirróticos descompensados ambulatoriais

Pacientes cirróticos descompensados são aqueles ascíticos e com outras complicações extra-hepáticas significativas, tais como encefalopatia e varizes de esôfago de médio calibre (n=16 pacientes). Em relação à etiologia, cinco pacientes tinham como causa o álcool, seis eram de causa virótica (quatro vírus C e dois vírus B) e cinco cirrose criptogênica. Esses indivíduos faziam uso de diuréticos (furosemida-40 a 80 mg/dia e espironolactona-25 a 100 mg/dia) e alguns também usavam propranolol (40 a 80 mg/dia). Por motivos éticos, os medicamentos não foram suspensos.

Posteriormente, esse grupo foi subdividido em pacientes cirróticos descompensados que usavam propranolol (n=9) e outro que não usava esse medicamento (n=7).

- Grupo 4 - Cirróticos descompensados no período intra-operatório (fase pré-anepática) do transplante hepático

Trata-se de pacientes cirróticos descompensados no momento em que foram submetidos à cirurgia para o transplante hepático (n=22 pacientes). No tocante à etiologia, quatro eram de origem etanólica, 13 de origem virótica (12 vírus C e um vírus B), um de origem obstrutiva biliar primária e quatro criptogênica.

Esses pacientes faziam uso de diuréticos (furosemida-40 a 80 mg/dia e espironolactona-25 a 100 mg/dia) e alguns também usavam propranolol (40 a 80 mg/dia). Por motivos éticos, os medicamentos não foram suspensos.

Posteriormente, esse grupo também foi subdividido em pacientes cirróticos descompensados que usavam (n=11) e que não usavam propranolol (n=11).

3.2 Protocolo geral do estudo

O estudo foi realizado a partir da triagem dos voluntários, por avaliação clínica (exame físico, exames laboratoriais prévios, prontuário) - (TAB. 3 e 4). Os pacientes cirróticos tinham confirmação da cirrose por meio de estudo histopatológico de biópsia hepática e/ou sinais ultra-sonográficos.

TABELA 3

A: Pacientes ambulatoriais: dados gerais dos pacientes ambulatoriais

	Controles	Cirróticos compensados	Cirróticos descompensados sem propranolol	Cirróticos descompensados com propranolol
Idade	48,44±2.51	56.17±2.49	50,43±4.99	47±2
Sexo H/M	9/9	5/7	4/3	5/4
Child A/B/C		5/7/0	0/3/4	0/5/4

B: Dados laboratoriais gerais dos pacientes cirróticos

	Cirróticos compensados	Cirróticos descompensados ambulatoriais	Cirróticos descompensados sob transplante
Child	6.6±0.18	11±0.8	11±1.8
Albumina g/dl	2.88±0.15	2.4±0.27	2.6±0.15
Bilirrubina	2.9±0.91	3.5±1.4	3.7±0.8
Creatinina mg/dl	0.7±0.02	1.18±0.11	1.1±0.17
RNI	1.23±0.06	1,69±0.31	1.75±0.21
Protrombina %	70.5±5.75	50.0±11.65	41.5±6.7
Na sérico mEq/dl	139±1.3	126±2.6	130±1.7

TABELA 4
 Pacientes cirróticos descompensados, sob transplante hepático,
 com ou sem propranolol: dados gerais

	Com propranolol	Sem propranolol
Idade	49.58±3.8	46.86±3.18
Sexo H/M	4/7	7/4
Child A/B/C	0/5/6	0/4/7

Os voluntários dos grupos 1, 2 e 3 foram submetidos à coleta de sangue (10 ml) venoso periférico após jejum de 10 horas, entre oito e 10 horas da manhã, após 20-30 minutos de repouso em decúbito dorsal horizontal, para a determinação da atividade da renina plasmática (ARP) dos níveis séricos de Ang I, Ang II, Ang – (1-7), por meio de radioimunoensaio.

Já os voluntários do grupo 4 foram submetidos à coleta de sangue da veia porta (10 ml) e artéria radial (10 ml) na fase pré-anepática durante a cirurgia de transplante hepático também para a determinação de ARP, Ang I, AngII e Ang-(1-7). Todo o sangue coletado era colocado em coquetel de inibidores de proteases e centrifugado imediatamente, sendo o sobrenadante acondicionado em *freezer* a -80°C até a realização dos radioimunoensaios para determinação plasmática das angiotensinas.

A indução anestésica foi feita com o hipnótico etomidato associado ao opióide fentanil, na dose aproximada de 5 µ/Kg peso, e ao relaxante muscular succinilcolina (100 mg). A anestesia foi mantida com o agente inalatório isoflurano (CAM~1,0) e o relaxante muscular atracúrio até a obtenção das amostras de sangue. No momento da coleta sangüínea na veia porta e artéria radial, colhiam-se também os dados hemodinâmicos do paciente: débito cardíaco (DC), índice cardíaco (IC), pressão arteial média (PAM), pressão encunhada de artéria pulmonar (PWAP), pressão de artéria pulmonar (PAP), pressão venosa central (CVP), resistência vascular sistêmica (RVS), índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) e saturação venosa mista (SvO₂).

3.3 Métodos

3.3.1 Equipamentos utilizados

- Agitador magnético FISATON (Fisaton, Brasil);
- Agitador vórtex TE 162 TECNAL (Pachame, Brasil);
- Balança analítica S 200 BOSCH;
- Balança granatária B360 MICRONAL (Micronal, Brasil);
- Banho Maria mod. 100 FANEM (Fanem, Brasil);
- Centrífuga evaporadora VR-1 (Heto, EUA);
- Centrífuga EXCELSA 2 (Fanem, Brasil);
- Centrífuga refrigerada FR-2 (Fanem, Brasil);
- Colunas *Bond Elut* (Varian, EUA);
- Detector de radiação γ 1275 LBK WALLAC Minigama (Wallac, Finlândia);
- Sistema de eletroforese de gel MINICELL- EC 370;
- Microcentrífuga 5415 (Eppendorf, Alemanha);
- Microseringas 725, 250 μ l (Hamilton Co, EUA);
- Pipetas automáticas Pipetman (Gilson, França);
- Pipetas automáticas Finnpipette (Labystems, Finlândia);
- Potenciômetro pH meter 713 (Metrohm, Suíça);
- Polaroid 667 (Inglaterra);
- Refrigerador -80°C Advantage (Queue, Systems, Inc, EUA);
- Sistema de espectrofluorimetria: (Cary Eclipse – Varian, EUA);
- Sistema purificador de água Easypure LF (Barnstead, EUA);
- Termociclador PTC-100™ (MJ Research);
- Termomixer compact (Eppendorf, Alemanha);
- UV Stratalinker 1800 (Stratagene);
- Cateter Swan-Ganz de débito cardíaco contínuo (CCOMBO/SvO₂) - 110cm/7.5F (Edwards Lifesciences);
- Monitor multiparâmetros (DIXTAL);
- Monitor *vigilance* para débito cardíaco e SvO₂ contínuos.

3.3.2 Drogas e reagentes

- Acetonitrila (ACN) grau HPLC (Merck, Alemanha);
- Ácido acético PA (Merck ,Brasil);
- Ácido bórico (Merck ,Brasil);
- Ácido clorídrico (HCl) fumegante (Merck ,Brasil);
- Ácido etilenodinitrilo tetra-acético (EDTA) (Merck, Brasil);
- Ácido heptafluorobutírico (HFBA) - (Merck, Alemanha);
- Ácido trifluoracético (TFA) - (Merck, Alemanha);
- Albumina de soro bovino (BSA) - (Sigma, EUA);
- Álcool isoamílico (Promega; EUA);
- Agarose (Gibco; EUA);
- Anticorpo para angiotensina I (*Cleveland Clinic Foundation*);
- Anticorpo para angiotensina II (*Cleveland Clinic Foundation*);
- Anticorpo para angiotensina-(1-7) (*Cleveland Clinic Foundation*);
- Azida sódica (Merck , Alemanha);
- Bacitracina (Sigma, EUA);
- Bestatina (Sigma , EUA);
- Brometo de etídeo (Sigma; EUA);
- Carbonato de sódio (NaHCO₃) - (Merck ,Brasil);
- Carvão ativado (Merck, Brasil);
- Cloreto de sódio (NaCl) (Merck, Brasil);
- Dextran (Pharmacia, EUA);
- Etanol (Aldrich, EUA);
- Hidróxido de sódio (NaOH) - (F. Maia, Brasil);
- Hip-His-Leu (Sigma, EUA);
- His-Leu (Sigma, EUA);
- Iodo radioativo (125 I) (*Amersham Internacional*);
- Isopropanol (Merk; Brasil);
- *Ladder* para gel (Promega, EUA);
- Lisozima (Sigma, EUA);

- *Loading dye* (Promega, EUA);
- Metanol (MeOH) - (Merck, Brasil);
- O-ftaldialdeído (Sigma , EUA);
- O-fenantrolina (Sigma, EUA);
- Para hidroximercúrio-benzoato (pOHHgBz) - (Sigma , EUA);
- Para-metilsulfonil fluoreto (PMSF) - (Calbiochem, EUA);
- Peptídeo angiotensina I (Sigma, EUA);
- Peptídeo angiotensina II (Sigma, EUA);
- Peptídeo angiotensina-(1-7) - (Sigma, EUA);
- Pepstatina A (Sigma , EUA);
- Primers (Gibco, EUA);
- Primers (Biotex, Alemanha);
- Proteinase K (Promega, EUA);
- Tris (Hidroximetil)-aminometano (Merck , Brasil).

3.3.3 Ensaios bioquímicos

3.3.3.1 Radioimunoensaio (RIE)

Como já citado, as amostras de sangue coletadas foram utilizadas para a realização de radioimunoensaio (RIE) para determinar a ARP (RIE para Ang I) e para dosagem de peptídeos [Ang I, AngII e Ang-(1-7)]. Os RIEs foram realizados conforme os protocolos adotados pelo Laboratório de Hipertensão do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG). Para mais detalhes, ver Botelho *et al.* (1994), Neves *et al.* (1995) e Simões e Silva *et al.* (2004).

3.3.3.1.1 Protocolo geral dos RIEs

- Coleta de sangue

As amostras de sangue para dosagem da atividade da renina plasmática e para a determinação das angiotensinas dos grupos 1, 2 e 3 foram obtidas pela coleta em veia periférica. E no grupo 4 na veia porta e artéria radial. Antes da coleta, os pacientes dos grupos 1, 2 e 3 permaneceram em repouso, deitados por pelo menos 20 minutos, para depois a retirada do sangue ser feita. No grupo 4, o sangue foi coletado da veia porta e artéria radial durante a fase inicial (pré-anepática) de transplante hepático.

Foi utilizado 1 ml de sangue de cada paciente para determinação da ARP, em seringas lavadas com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 7,5% e imediatamente transferidas para tubos de polietileno mantidos em gelo contendo 100 µl de EDTA 7,5%.

Foram também empregados 6 ml de sangue de cada paciente para determinação das angiotensinas, em seringas lavadas com um coquetel de inibidores de angiotensinases. Para cada mililitro de sangue colhido foram utilizados 140 µl de coquetel composto de: 10 µl de p-hidroxi-benzoato de mercúrio 1 mm, 50 µl de o-fenantrolina 9,1 mm, 10 µl de para-metilsulfonil fluoreto 1 mm, 50 µl de EDTA a 7,5% e 20 µl de pepstatin A 0,5 mm.

As soluções de pOHHgBz e o PMSF foram preparados imediatamente antes das coletas, da seguinte forma:

- a) Pesou-se 1 mg de pOHHgBz em balança analítica, diluindo-se, a seguir, em 2,5 ml de NaCl 0,9%.
- b) Pesou-se 1,74 mg de PMSF em balança analítica, diluindo-se, a seguir, em 10 ml de MeOH a 50%.
- c) Depois disso, preparou-se o coquetel de inibidores de angiotensinases logo antes do momento da coleta de sangue, utilizando-se as soluções mencionadas juntamente com pepstatin a 0,5 mm e o O-fenantrolina 9,1 mm, que foram conservados em *freezer*, e EDTA a 7,5%, mantido em geladeira.

- Obtenção das amostras de plasma

Após a coleta das amostras de sangue, os tubos foram colocados em centrífuga refrigerada e centrifugados a 2.000 rotações por minuto (rpm) durante

20 minutos, sob temperatura de 4°C. O plasma foi mantido em tubos em um *freezer* a - 80°C, até a extração.

- Extração das amostras de plasma

A extração de angiotensinas do plasma foi realizada em colunas *Bond Elut C-18*. As soluções e amostras de plasma foram passadas pela coluna através da adaptação de uma seringa que permitia aplicar pressão positiva à coluna. Antes disso, foram centrifugadas novamente a 4°C sob 2.000 rpm por 20 minutos. A coluna *Bond Elut C-18* foi pré-ativada por meio da lavagem com 20 ml de acetronitrila 99,9% (ACN 99,9%)/ ácido heptafluobutírico 0,1% (HFBA 0,1%) e 20 ml de solução aquosa de HFBA 0,1%. A seguir, a coluna foi lavada seqüencialmente com 3 ml de BSA 0,1%/ HFBA 0,1%, 10 ml de ACN 10%/ HFBA 0,1% e 3 ml de HFBA 0,1%. Em seguida, foi aplicada a amostra, anotando-se o volume de plasma colocado na coluna. Posteriormente à aplicação das amostras, a coluna foi lavada com 20 ml de HFBA 0,1% e 3 ml de ACN 60%/ HFBA 0,1%. Os peptídeos foram eluídos com 3 ml de ACN 99,9%/ HFBA 0,1% e armazenados a - 20°C em tubos de polietileno previamente lavados com BSA 0,1%. O material eluído foi submetido à secagem em centrífuga evaporadora por 8-12 horas e estocado a -20°C até o processamento das amostras pelo método de radioimunoensaio.

3.3.3.1.2 Radioimunoensaio para angiotensina I

O material já ressuspendido anteriormente foi retirado do *freezer* -20°C e posto para descongelar em gelo.

O anticorpo empregado foi produzido no Laboratório de Hipertensão do ICB-UFMG na diluição de 1:20.000 em tampão de Tris acetato 0,2M, com pH 7,4 (tampão I). A solução contendo Ang I marcada com iodo radioativo (¹²⁵I) foi usada num volume correspondente a 6.000 contagens por minuto (com), sendo diluída em tampão de Tris acetato 0,2 m pH 6,8 contendo BSA 0,05% (tampão II), que foi preparada na hora do uso.

A curva-padrão do radioimunoensaio foi feita pelas diluições progressivas a partir de uma solução estoque contendo 1 mg/ml de Ang I. Todos os tubos de ensaio receberam 100 µl de Ang I marcada com ¹²⁵I. O tubo branco recebeu 400 µl do tampão I no lugar da amostra e 100 µl do tampão II no lugar do anticorpo. O tubo padrão “zero” recebeu 100 µl de anticorpo, 100 µl do tampão II, 300 µl do tampão I e 100 µl de BSA 5% no lugar da solução padrão. Os tubos com amostra receberam 100 µl de plasma e 100 µl de anticorpo, além do peptídeo marcado. A seguir, os tubos foram incubados em agitação por 18-22 horas sob temperatura de 4°C. Após a incubação, foi adicionado a todos eles, exceto ao “total”, suspensão de carvão ativado. O tubo “total” recebeu 1.500 µl de tampão I, sendo 100 µl correspondentes à solução de carvão ativado e 100 µl correspondendo ao anticorpo, 100 µl de BSA 5% (correspondendo às amostras ou padrões), além de 100 µl de Ang I marcada. Depois da adição de carvão, os tubos foram agitados e centrifugados a 4°C por 20 minutos, a 2.000 rpm. Em seguida à centrifugação, o sobrenadante foi vertido e a radioatividade contada em contador-gama. As concentrações de Ang I foram fornecidas pela programação do contador de radioatividade, a partir da curva-padrão construída. Essa concentração foi, então, corrigida para o volume eluído da coluna de extração.

3.3.3.1.3 Radioimunoensaio para angiotensina II

O material submetido à secagem na evaporadora foi ressuscitado em 650 µl de tampão de Ang II para a dosagem de Ang II. Esse tampão consistiu de uma solução de NaCl a 0,9%, BSA a 0,1% e ácido acético a 0,03%.

O anticorpo empregado foi produzido no Laboratório de Hipertensão do ICB-UFMG e foi utilizado na diluição de 1:160.000 em tampão de Tris 0,1M, EDTA 15mM e lisosima a 0,1%, com pH 7,4 para dosagem de Ang II (tampão I). A solução contendo Ang II marcada com ¹²⁵I foi utilizada num volume correspondente a 6.000 cpm, sendo diluída em tampão I para dosagem de Ang II. A curva-padrão do radioimunoensaio foi feita pelas diluições progressivas a partir de solução estoque contendo 2 mg/ml de Ang II. Todos os tubos de ensaio receberam 100 µl de Ang II marcada com ¹²⁵I. O tubo branco recebeu 100 µl de tampão I no lugar do anticorpo e 200 µl de tampão II no lugar da amostra. O tubo

padrão “zero” recebeu 100 µl de anticorpo e 200 µl de tampão II no lugar da solução padrão. Os tubos com amostra receberam 200 µl de plasma e 100 µl de anticorpo, além do peptídeo marcado.

A seguir, os tubos foram incubados em agitação por 18 a 22 horas, numa temperatura de 4°C. Após a incubação, adicionou-se a todos os tubos, exceto ao “total”, suspensão de carvão ativado. O tubo total recebeu 1.100 µl de tampão I, sendo 100 µl correspondentes à solução de carvão ativado e 100 µl correspondendo ao anticorpo, 200 µl de tampão II (correspondendo às amostras ou padrões), além de 100 µl de Ang II marcada. Depois da adição de carvão, os tubos foram agitados e centrifugados a 4°C durante 20 minutos, a 2.000 rpm. Em seguida à centrifugação, o sobrenadante foi vertido e a radioatividade contada em contador-gama. As concentrações de Ang II foram fornecidas pela programação do próprio contador de radioatividade, a partir da curva-padrão construída. Essa concentração foi, então, corrigida para o volume eluído da coluna de extração.

3.3.3.1.4 Radioimunoensaio para angiotensina - (1-7)

O material já ressuspendido anteriormente foi retirado do *freezer* -20°C e colocado para descongelar em gelo.

O anticorpo empregado foi produzido no laboratório de Hipertensão do ICB-UFMG, na diluição de 1:20.000 em tampão de Tris-HCl 50mM, ázida sódica 0,02% com pH 7,5 (tampão I).

A solução contendo Ang-(1-7) marcada com ¹²⁵I foi utilizada num volume correspondente à contagem de 6.000 cpm, sendo diluída em tampão I.

A curva-padrão do radioimunoensaio foi feita adotando-se diluições progressivas a partir de uma solução estoque contendo 2 mg/ml de Ang-(1-7). Todos os tubos de ensaio receberam 100 µl de Ang -(1-7) marcada com ¹²⁵I. O tubo branco recebeu 100 µl de tampão II de Ang II no lugar do anticorpo e 200 µl de tampão I no lugar da amostra. O tubo padrão “zero” recebeu 100 µl de anticorpo e 200 µl de tampão II de Ang II no lugar da solução padrão. Os tubos com amostra receberam 100 µl de plasma e 100 µl de anticorpo, além do peptídeo marcado. A seguir, os tubos foram incubados em agitação por 18 a 22 horas numa

temperatura de 4°C. Depois da incubação, adicionou-se a todos os tubos, exceto ao “total”, suspensão de carvão ativado. O tubo “total” recebeu 1.300 µl de tampão I, sendo 100 µl correspondentes à solução de carvão ativado e 100 µl correspondendo ao anticorpo, 200 µl de tampão II correspondendo às amostras ou padrões, além de 100 µl de Ang-(1-7) marcada. Em seguida à adição de carvão, os tubos foram agitados e centrifugados a 4°C durante 20 minutos, a 2.000 rpm. Posteriormente à centrifugação, o sobrenadante foi vertido e a radioatividade contada em contador-gama. As concentrações de Ang -(1-7) foram fornecidas pela programação do próprio contador de radioatividade a partir da curva-padrão construída. Essa concentração foi então corrigida para o volume eluído da coluna de extração e multiplicada por 0,7.

3.3.3.1.5 Ensaio da enzima renina (ARP)

O sangue foi coletado na presença de EDTA e logo após foi centrifugado e retirado o plasma para a realização do ensaio. Para a determinação da ARP, o plasma (0,2 ml) foi incubado em banho-Maria a 37°C por duas horas, juntamente com 0,2 ml de tampão I da Ang I (pH 6,8), 0,02 ml de 8-OH quinoleína 48 mm e 0,01 ml de PMSF 161 mm. Uma alíquota similar foi mantida a 4°C em banho de gelo. Ao final do tempo de incubação, 0,1 ml de cada amostra do plasma incubado foi adicionado ao RIE para Ang I, conforme descrito anteriormente. A ARP foi determinada por radioimunoensaio para Ang I, pela quantidade de Ang I formada no período de incubação (duas horas), a 37°C, sendo expressa em ng Ang I/ ml de plasma/hora. A ARP foi calculada subtraindo-se a concentração de Ang I na amostra incubada a 37°C daquela mantida em gelo.

3.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média, acrescidos de erro-padrão ou mediana. Diferenças entre as médias para cada variável de cada grupo foram avaliadas pelo teste *t* (duas variáveis) ou pela análise de variância (ANOVA), mais de duas variáveis. A comparação das médias da ANOVA foi feita usando-se o

teste de comparação múltipla de Bonferroni. Mann-Whitney (duas variáveis) ou Kruskal-Wallis (mais de duas variáveis) foram adotados se os dados eram considerados não paramétricos. A comparação das medianas do Kruskal-Wallis usou o teste de Dunns. Variáveis pareadas foram avaliadas pelo teste *t* pareado. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. Para os cálculos estatísticos, empregou-se o programa Graphpad PRISM, versão 4.03.

4 RESULTADOS

4.1 Resultados do perfil plasmático sistêmico do SRA dos pacientes cirróticos ambulatoriais

Em relação à atividade de renina plasmática (ARP), os dados do presente estudo revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. O grupo-controle e o grupo de cirróticos compensados não foram diferentes entre si quanto à ARP, mas diferiram do grupo de cirróticos descompensados ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente) - (GRÁF. 1, TAB. 5).

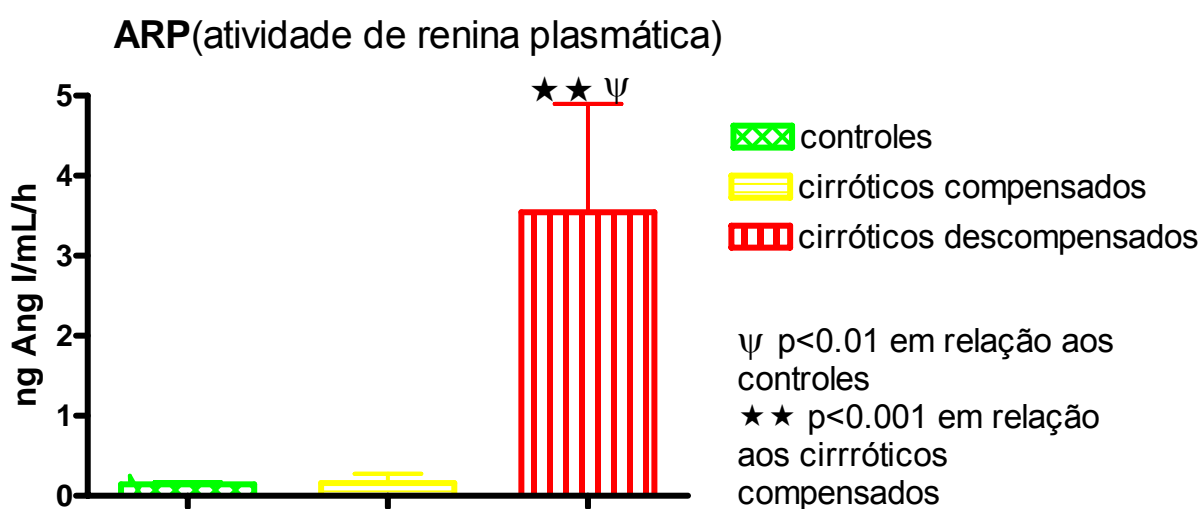


GRÁFICO 1 – ARP periférica nas fases clínicas da cirrose.

Em relação à AngI, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Os grupos-controle e de cirróticos compensados não diferiram entre si, mas foram diferentes do grupo de cirróticos descompensados ($p < 0,001$) - (GRAF, 2, TAB. 5).

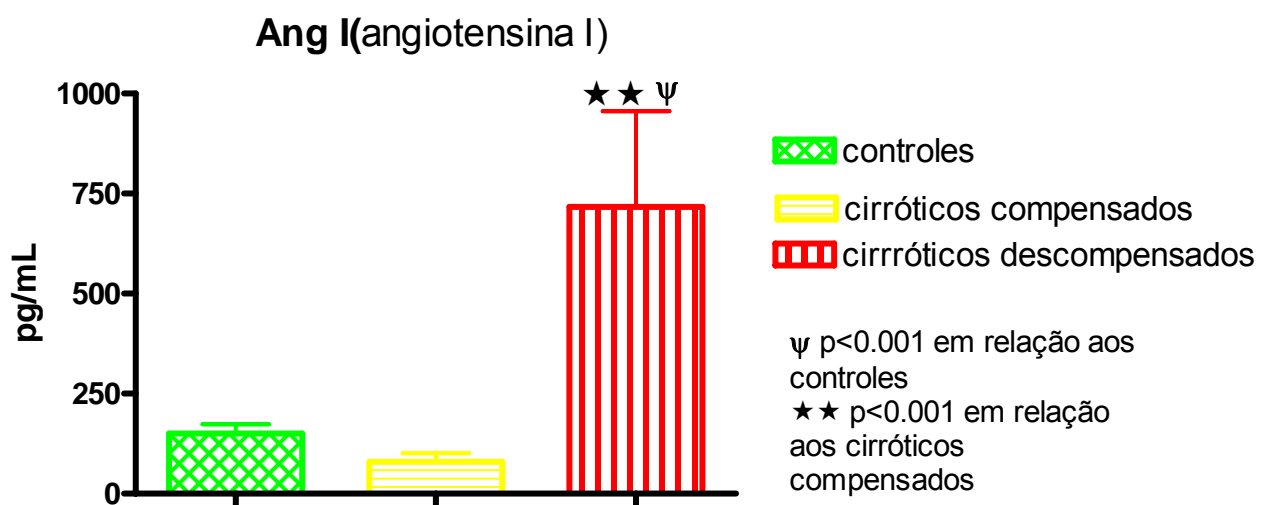


GRÁFICO 2 - ANG I plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.

Quanto à AngII, o grupo de cirróticos descompensados mostrou-se estatisticamente diferente tanto do grupo-controle ($p < 0,05$) quanto do grupo de cirróticos compensados ($p < 0,001$). Houve elevação da AngII circulante apenas nos pacientes cirróticos descompensados. O grupo de cirróticos compensados exibiu redução de AngII em relação aos controles não cirróticos ($p < 0,05$) - (GRAF. 3, TAB. 5).

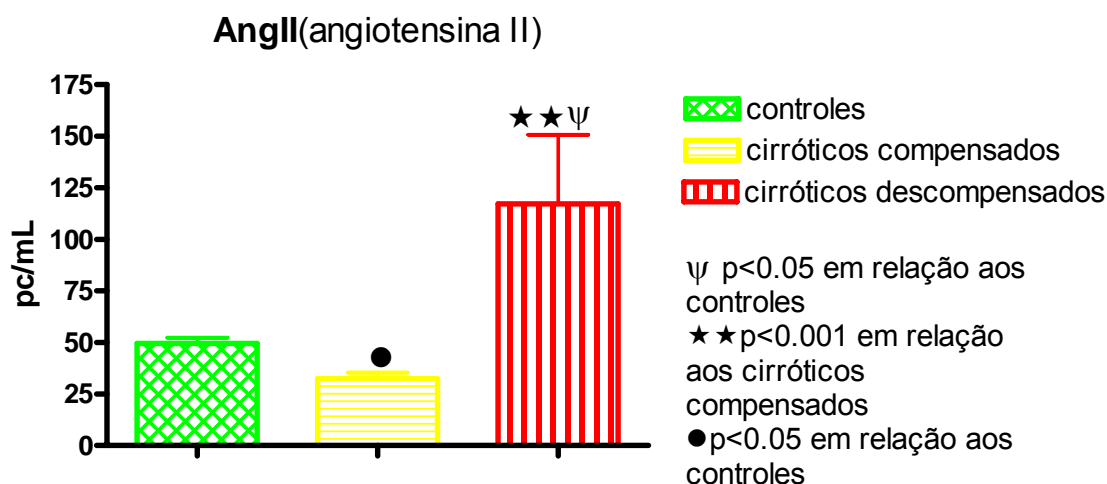


GRÁFICO 3 - ANG II plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.

No tocante à Ang1-7, o grupo de cirróticos descompensados foi estatisticamente diferente dos grupos-controle ($p<0,01$) e cirróticos compensados ($p<0,05$) - (GRAF. 4, TAB. 5).

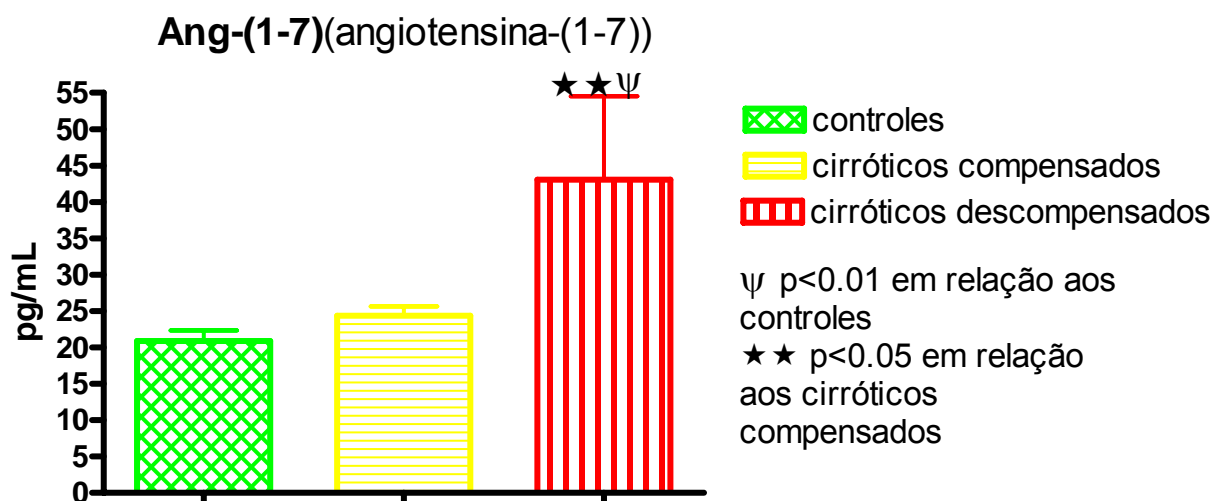


GRÁFICO 4 - ANG1-7 plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.

O grupo de cirróticos compensados apresentou razão entre Ang1-7 e AngII maior e estatisticamente diferente ($p<0,001$) do grupo de cirróticos descompensados e também do grupo de pacientes-controle ($p<0,01$). Os grupos

de pacientes cirróticos descompensados e pacientes-controle não diferiram estatisticamente em relação à razão Ang1-7/AngII (GRAF. 5, TAB. 5).

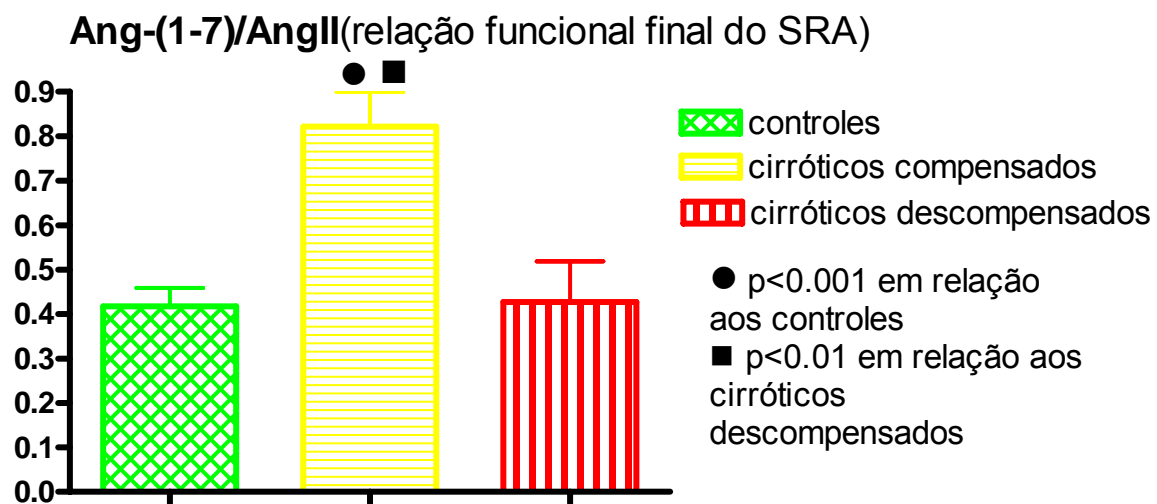


GRÁFICO 5 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.

O grupo de pacientes cirróticos compensados apresentou razão entre Ang1-7 e AngI maior e estatisticamente diferente dos pacientes cirróticos descompensados ($p < 0,01$) e controles ($p < 0,05$). O grupo-controle não diferiu do grupo de cirróticos descompensados (GRAF. 6, TAB. 5).

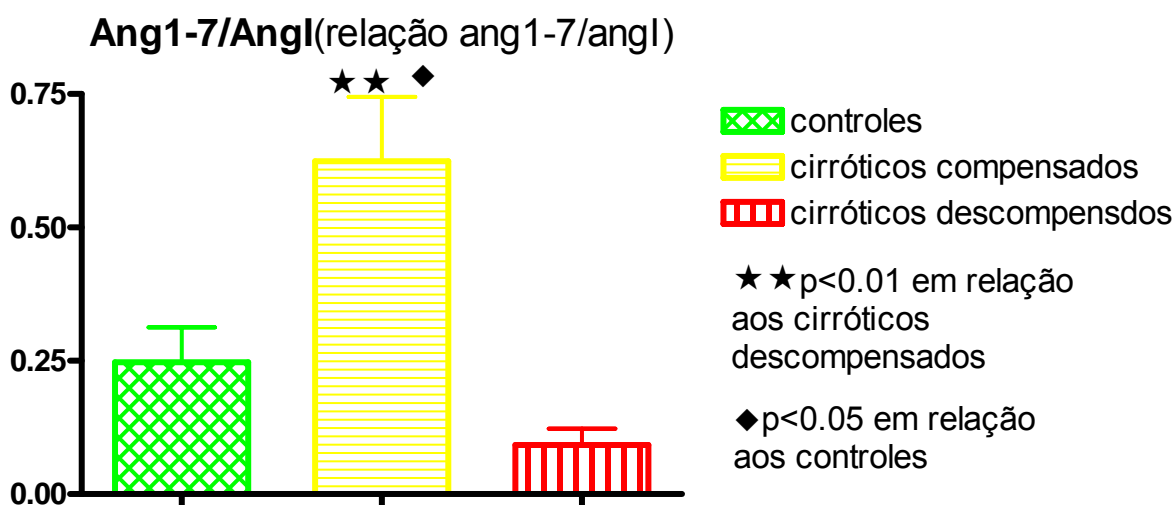


GRÁFICO 6 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose.

Os pacientes cirróticos descompensados apresentaram relação AngII/AngI estatisticamente reduzida ($p<0,05$) em relação aos cirróticos compensados (GRAF. 7, TAB. 5).

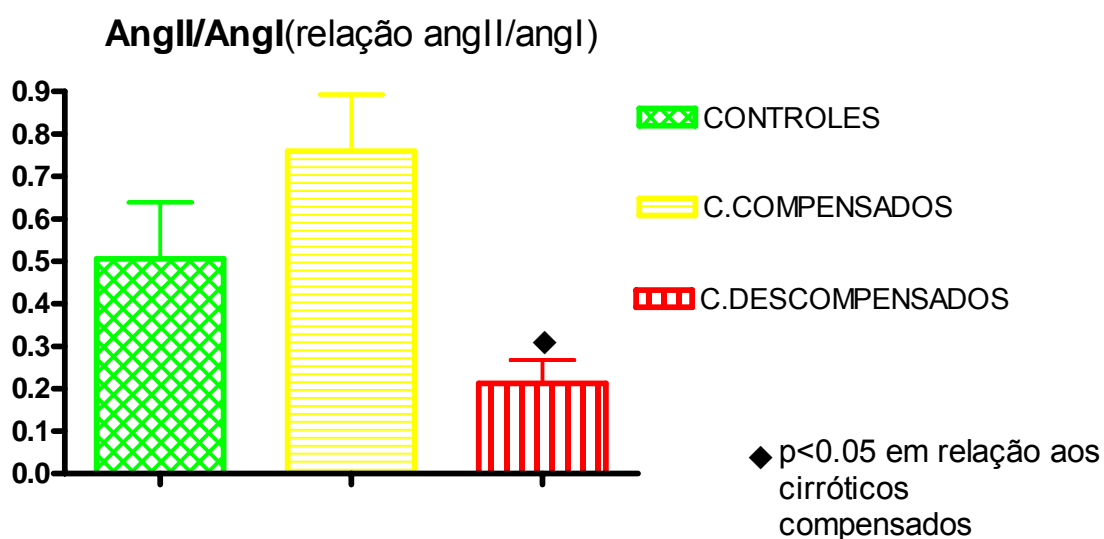


GRÁFICO 7 - Relação ANGII/ANGI plasmática periférica nas fases clínicas da cirrose hepática.

TABELA 5

SRA plasmático periférico dos pacientes cirróticos ambulatoriais

	Controles(n)	Cirróticos compensados(n)	Cirróticos descompensados(n)	p
ARPng/ml/h	0,14±0,02(18)	0,16±0,11(12)	3,54±1,35(7) $\alpha \beta$	p<0,01; p<0,001
Ang I pg/ml	150,1±23,5(18)	79,18±21(12)	717±239(7) $\alpha \beta$	p<0,05;p<0,001
AngII pg/ml	49,4±2,87(16)	32,44±2,93(12) γ	117,2±33,48(7) $\alpha \beta$	p<0,05;p<0,01;p<0,05
Ang1-7 pg/ml	20,86±1,47(17)	24,36±1,27(12)	43,04±11,47(7) $\alpha \beta$	p<0,01;p<0,05
Ang1-7/AngII	0,41±0,04(16)	0,82±0,07(12) $\gamma \epsilon$	0,42±0,09(7)	p<0,01;p<0,05
Ang1-7/AngI	0,24±0,06(17)	0,6±0,12(12) $\gamma \epsilon$	0,09±0,03(7)	P<0,05;p<0,01
AngII/AngI	0,50±0,13(16)	0,75±0,13(12)	0,21±0,05(7) β	P<0,05

α = diferença significativa em relação aos controles; β = diferença significativa em relação aos compensados; γ = diferença significativa em relação aos controles; ϵ = diferença significativa em relação aos descompensados.

4.2 Resultados do perfil plasmático sistêmico e local (esplâncnico) do SRA dos pacientes cirróticos descompensados durante a fase pré-anepática do transplante hepático

A atividade de renina plasmática (ARP) não se mostrou diferente na veia porta e na artéria radial (GRAF. 8, TAB. 6).

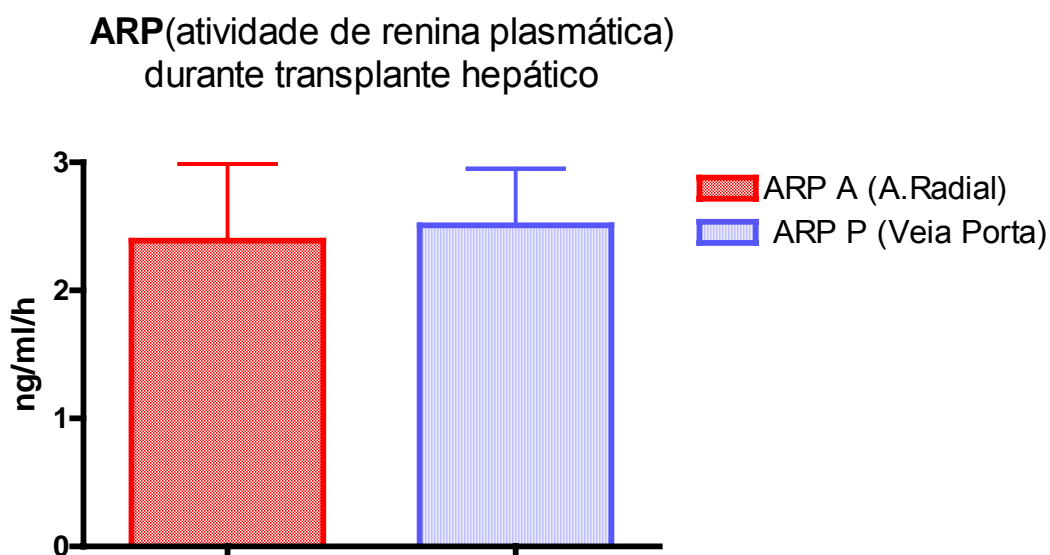


GRÁFICO 8 - ARP da veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

Não se verificou diferença nos níveis plasmáticos de angiotensina I (AngI) na veia porta e artéria radial (GRAF. 9, TAB. 6).

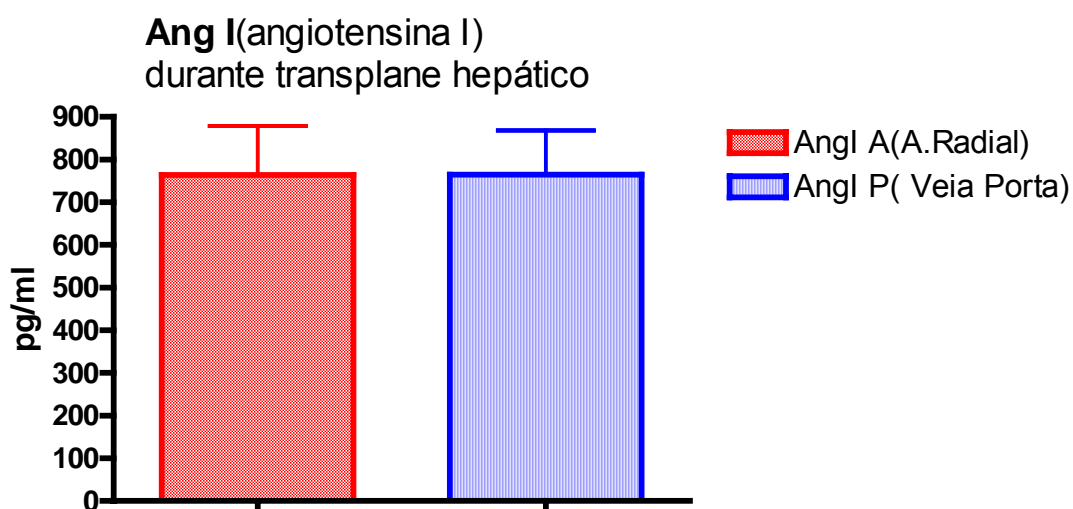


GRÁFICO 9 - ANG I plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

Os níveis plasmáticos de Ang1-7 não apresentaram diferenças na veia porta e artéria radial (GRAF. 10, TAB. 6).

Ang1-7(angiotensina-(1-7))
durante transplante hepático

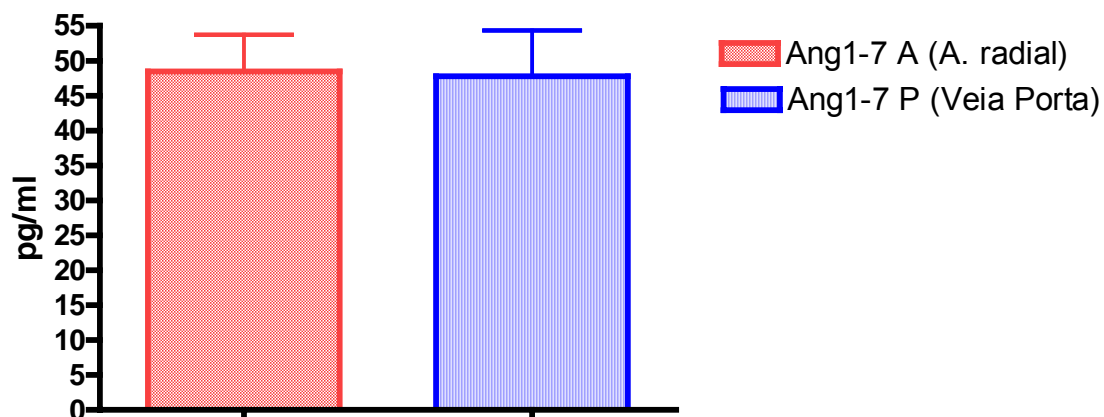


GRÁFICO 10 - ANG1-7 plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

A concentração plasmática de angiotensina II (AngII) na artéria radial mostrou-se mais elevada ($p < 0,05$) que na veia porta (GRÁF. 11, TAB.6).

AngII(angiotensina II)
durante transplante hepático

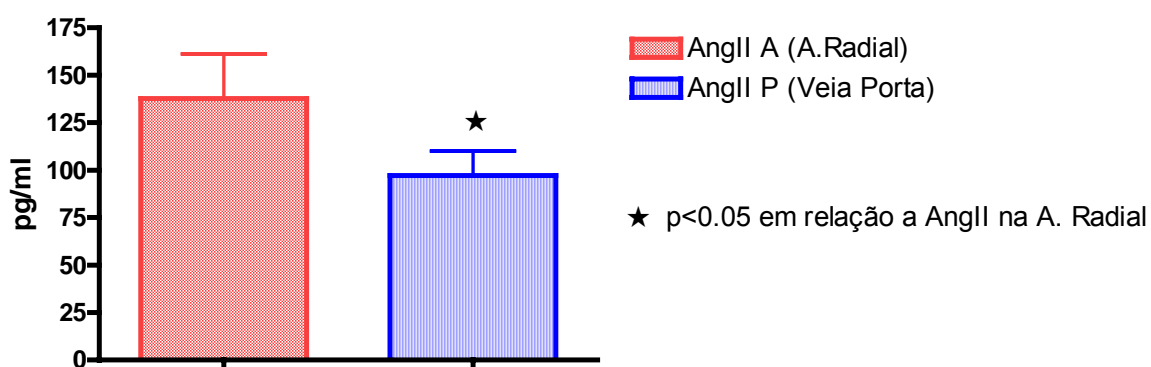


GRÁFICO 11 – ANGII plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

A relação Ang1-7/AngII mostrou-se menor ($p < 0,05$) na artéria radial em relação à veia porta (GRAF. 12, TAB. 6).

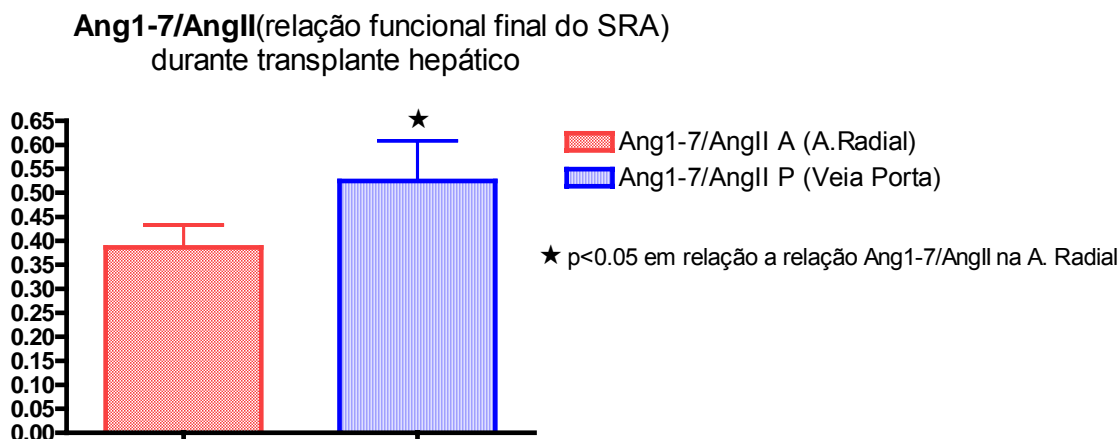


GRÁFICO 12 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

Não houve diferença na relação Ang1-7/AngI entre a veia porta e a artéria radial (GRAF. 13, TAB. 6).

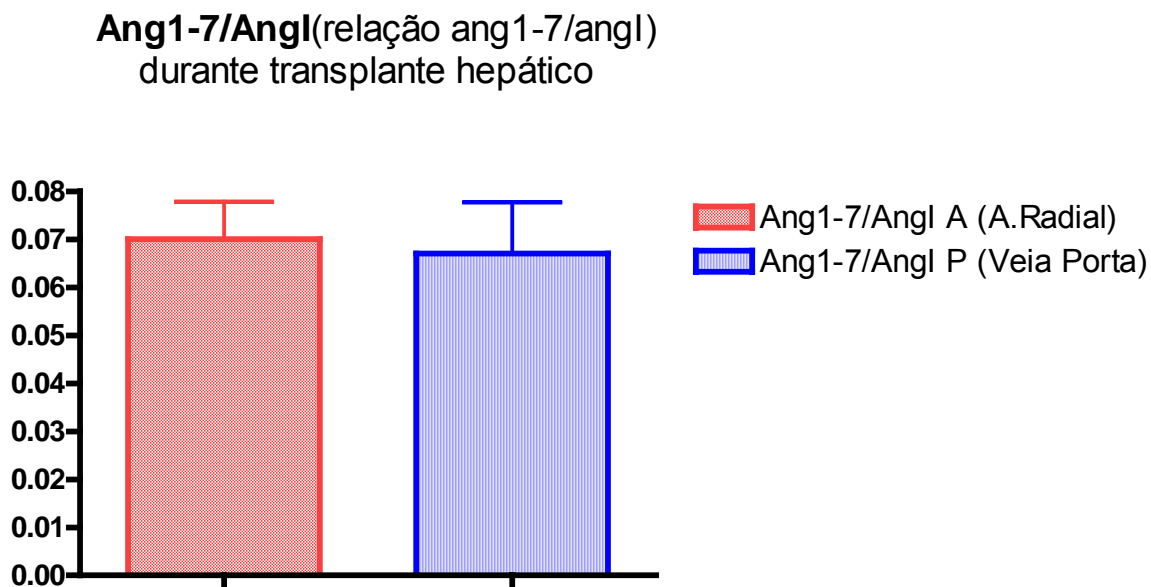


GRÁFICO 13 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

A relação AngII/AngI foi maior ($p<0,05$) na artéria radial que na veia porta (GRAF. 14, TAB. 6).

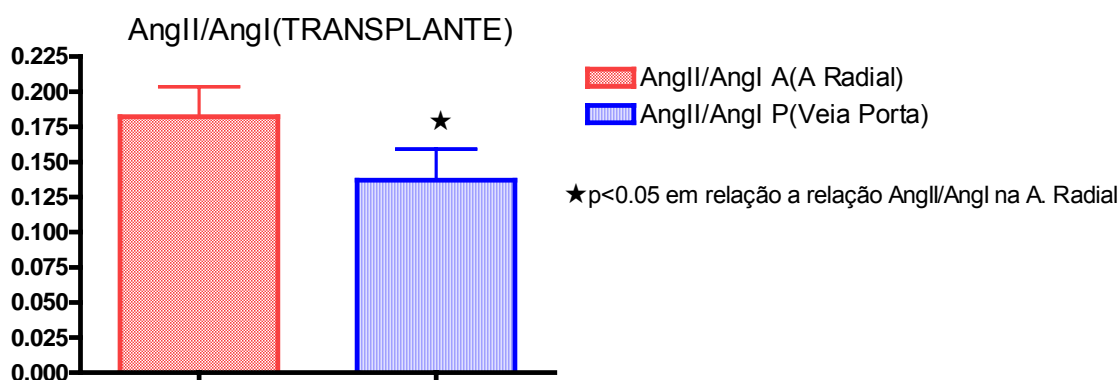


GRÁFICO 14 - Relação ANGII/ANGI na veia porta e artéria radial de cirróticos descompensados.

TABELA 6

SRA local e sistêmico de cirróticos descompensados, sob transplante hepático

	Artéria radial (n)	Veia porta (n)	p
ARPng/ml/h	2,38±0,59(9)	2,50±0,44(9)	
Ang I pg/ml	763,9±115(9)	764,9±103(9)	
AngII pg/ml	137,7±23,49(9)δ	97,24±12,72(9)	p<0,05
Ang1-7 pg/ml	48,48±5,26(9)	47,79±6,55(9)	
Ang1-7/AngII	0,38±0,04(9)δ	0,52±0,08(9)	p<0,05
Ang1-7/AngI	0,07±0,007(9)	0,06±0,01(9)	
AngII/AngI	0,18±0,02(9)δ	0,13±0,02(9)	p<0,05

δ=diferença significativa em relação à veia porta.

As variáveis hemodinâmicas dos pacientes cirróticos descompensados sob transplante hepático mostraram valores inferiores àqueles considerados normais.

TABELA 7

Variáveis hemodinâmicas de pacientes cirróticos sob transplante sem propranolol

DC (l/min)	9,51±1,12	VN=3-7
IC(l.min ⁻¹ .m ⁻²)	5,01±0,46	VN=2,5-4,0
RVS (dyn.s.cm ⁻⁵)	555,3±57,21	VN=1.200-1.500
IRVS (dyn.s.cm ⁻⁵ .m ⁻²)	1.029±94,76	VN=2.400-2.900

Verificou-se correlação positiva ($r=0,66$) entre a relação Ang1-7/AngII na artéria radial e o débito cardíaco dos pacientes cirróticos descompensados na fase pré-anepática do trasplante hepático (GRAF. 15).

CORRELAÇÃO
AG1-7/AGII(relação funcional final do SRA) DA A. RADIAL X DC

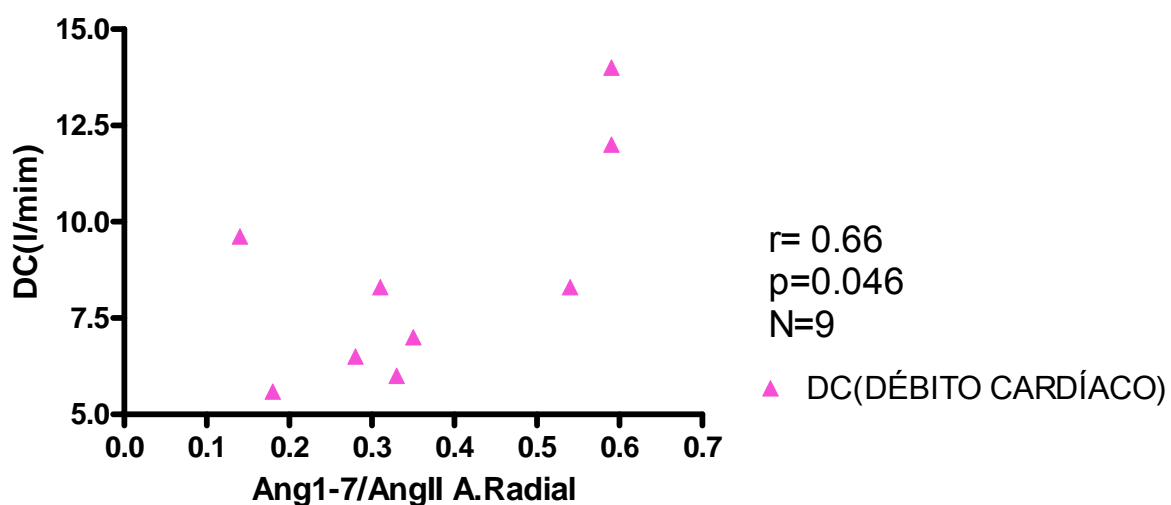


GRÁFICO 15 - Correlação entre relação plasmática ANG1-7/ANGII na artéria radial e débito cardíaco de cirróticos descompensados.

Constatou-se correlação negativa ($r=-0,7037$) entre a relação Ang1-7/AngII e a resistência vascular sistêmica dos pacientes cirróticos descompensados durante a fase pré-anepática do transplante hepático (GRAF. 16).

CORRELAÇÃO
ANG1-7/ANGII(relação funcional final do SRA) DA **ARTÉRIA RADIAL X RVS**

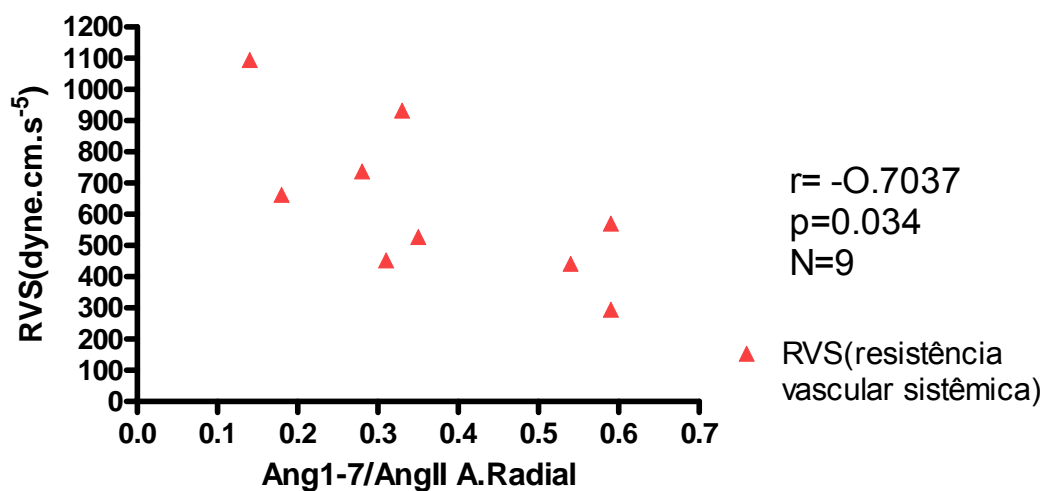


GRÁFICO 16 - Correlação entre a relação plasmática ANG1-7/ANGII na artéria radial e resistência vascular sistêmica de cirróticos descompensados.

4.3 Resultados do perfil plasmático do SRA na veia porta e variáveis hemodinâmicas dos pacientes descompensados sob transplante, usando ou não propranolol

Pacientes cirróticos descompensados, em uso crônico de propranolol, durante transplante hepático apresentaram ARP reduzida na veia porta na comparação com os que não usavam propranolol (GRAF. 17, TAB. 8).

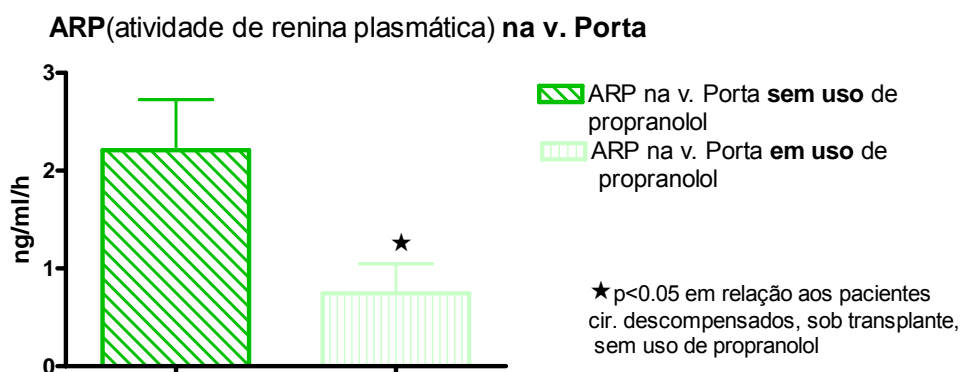


GRÁFICO 17 - Atividade de renina plasmática na veia porta de pacientes cirróticos descompensados em uso ou não de propranolol.

Pacientes cirróticos descompensados, em uso crônico de propranolol, durante transplante hepático exibiram AngI reduzida na veia porta em relação aos que não usavam propranolol (GRAF. 18, TAB. 8).

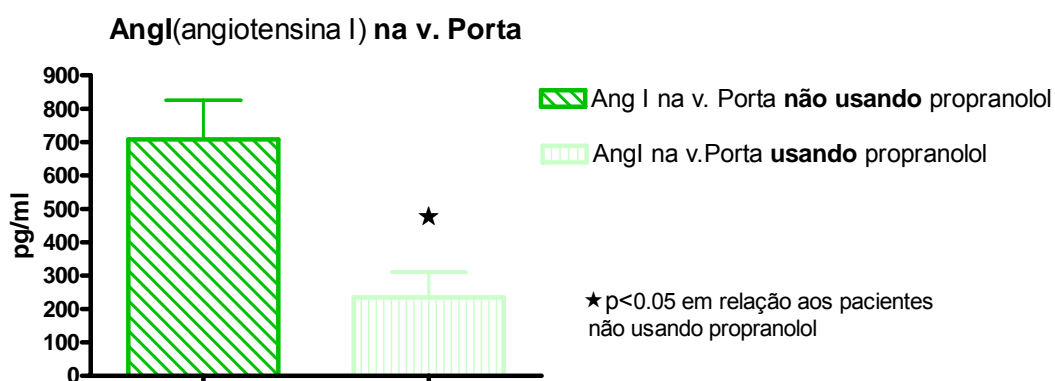


GRÁFICO 18 - ANG I plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

Pacientes cirróticos descompensados, em uso crônico de propranolol, durante transplante hepático tiveram Ang1-7 na veia porta reduzida em relação aos pacientes que não usavam propranolol (GRAF. 19, TAB. 8).

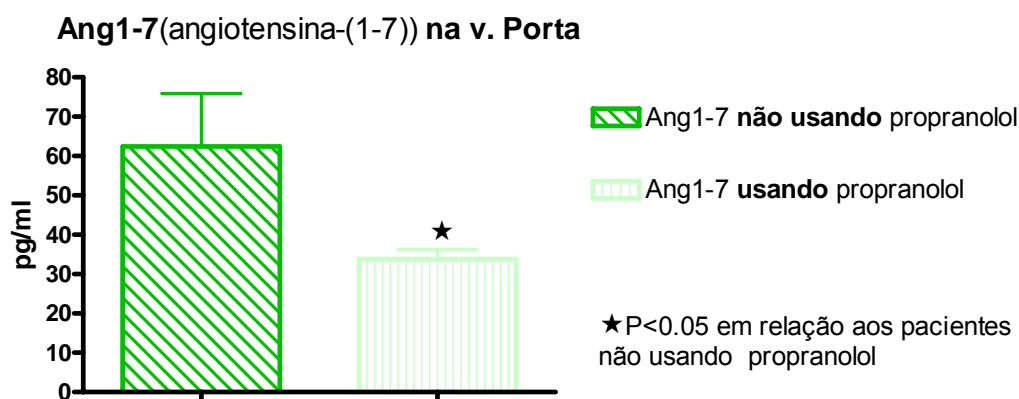


GRÁFICO 19 - ANG1-7 plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

Pacientes cirróticos descompensados, em uso crônico de propranolol, durante transplante hepático apresentaram AngII reduzida na veia porta em relação aos que não usavam esse medicamento (GRAF.20, TAB. 8).

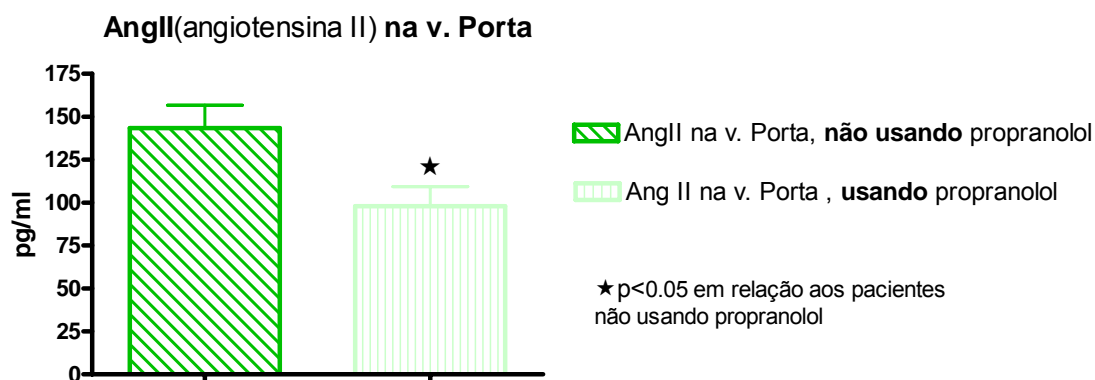


GRÁFICO 20 - ANG II plasmática na veia porta de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

Não se registrou diferença significativa na relação Ang1-7/AngII na veia porta dos pacientes cirróticos que usavam ou não cronicamente propranolol (GRAF. 21, TAB. 8).

Ang1-7/AngII(relação funcional final do SRA) na v. Porta

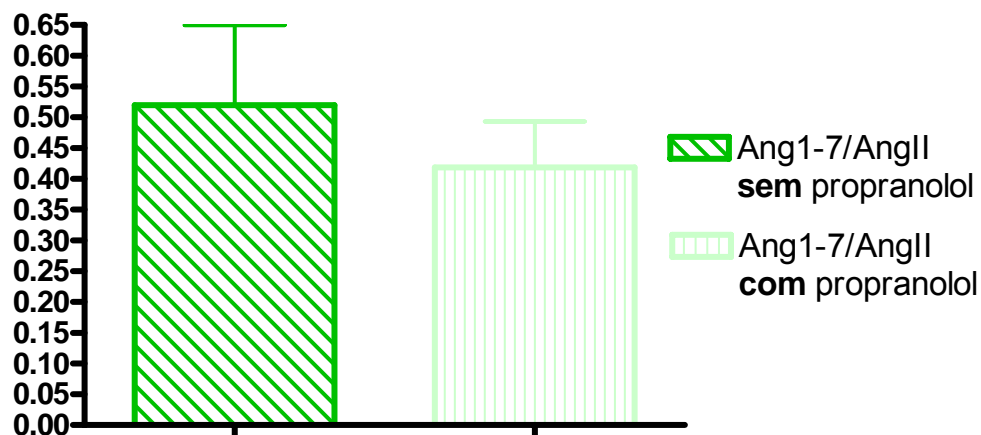


GRÁFICO 21 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática na veia porta de cirróticos usando ou não propranolol.

Não foi constatada diferença significativa na relação Ang1-7/AngI na veia porta de pacientes cirróticos usando ou não propranolol cronicamente (GRAF. 22, TAB. 8).

Ang1-7/AngI(relação Ang1-7/AngI) na v. Porta

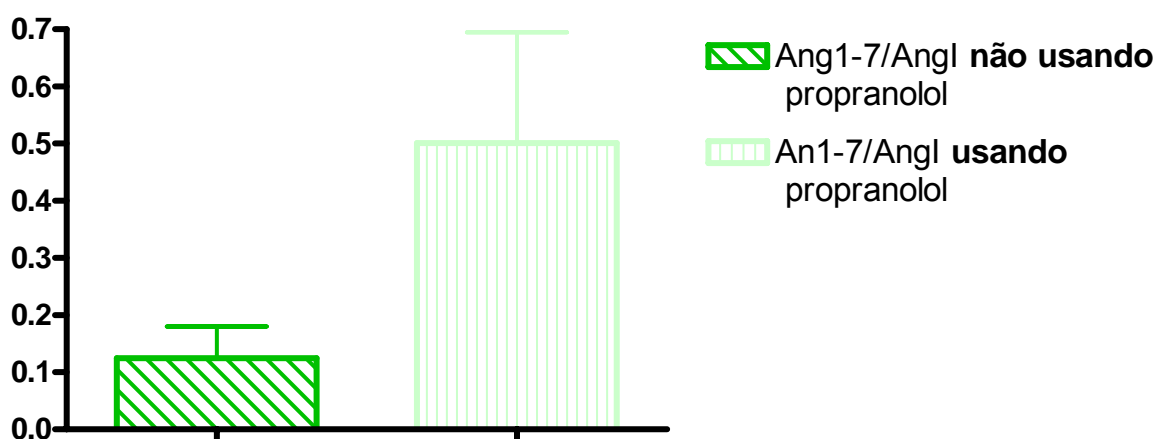


GRÁFICO 22 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática na veia porta de cirróticos descompensados.

A relação AngII/AngI na veia porta de pacientes cirróticos usando propranolol cronicamente apresentou aumento significativo em relação aos pacientes cirróticos não usando propranolol (GRAF. 23, TAB. 8).

AngII/AngI(relação AngII/AngI) na v. Porta

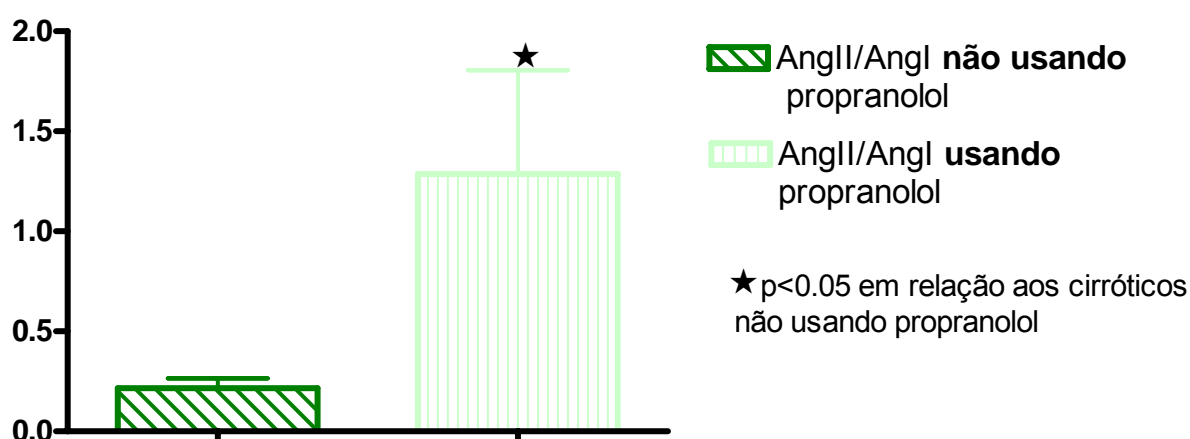


GRÁFICO 23 - Relação ANGII/ANGI plasmática na veia porta de cirróticos usando ou não propranolol.

TABELA 8

Efeito do uso de propranolol oral no SRA da circulação esplâncnica de cirróticos descompensados

	Veia porta sem propranolol(n)	Veia porta com propranolol(n)	P
ARPng/ml/h	2,2±0,5(9)	0,74±0,30(8) π	p<0,05
Ang I pg/ml	708±117(9)	235±75,62(10) π	p<0,05
AngII pg/ml	143,4±13,2(11)	97,87±11,46(11) π	p<0,01
Ang1-7 pg/ml	59,44±10,40(11)	35,41±3,2(11) π	p<0,01
Ang1-7/AngII	0,52±0,12(11)	0,41±0,07(11)	Erro β =0.25
Ang1-7/AngI	0,12±0,05(9)	0,49±0,19(10)	Erro β <0.20
AngII/AngI	0,21±0,04(9)	1,28±0,5(10) π	p<0,05

π =diferença significativa em relação aos sem propranolol.

O débito cardíaco dos pacientes cirróticos usando propranolol estava reduzido em relação aos pacientes cirróticos que não usavam propranolol cronicamente (GRAF. 24, TAB.9).

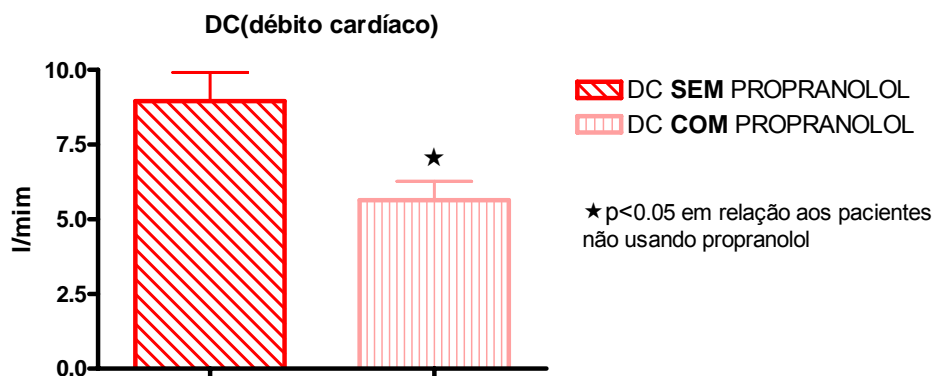


GRÁFICO 24 - Débito cardíaco (DC) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

O índice cardíaco dos pacientes cirróticos usando propranolol cronicamente mostrou-se reduzido em relação àqueles pacientes cirróticos não usando propranolol (GRAF, 25, TAB. 9).

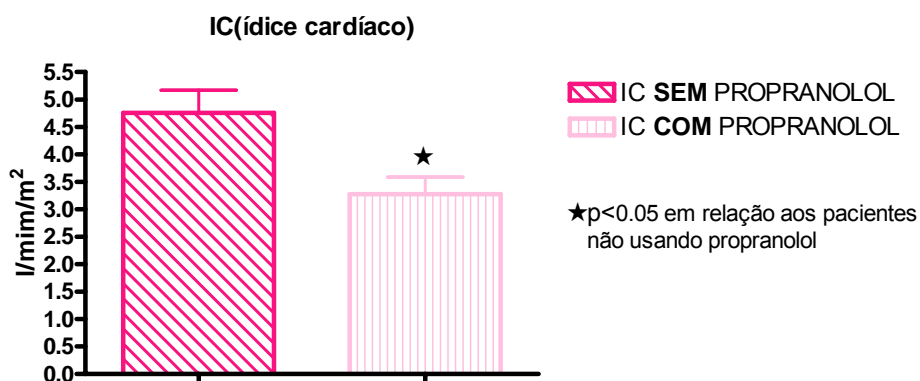


GRÁFICO 25 - Índice cardíaco (IC) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

A resistência vascular sistêmica dos pacientes cirróticos usando propranolol cronicamente ficou aumentada em relação aos pacientes cirróticos que não usavam esse medicamento (GRAF. 26, TAB. 9).

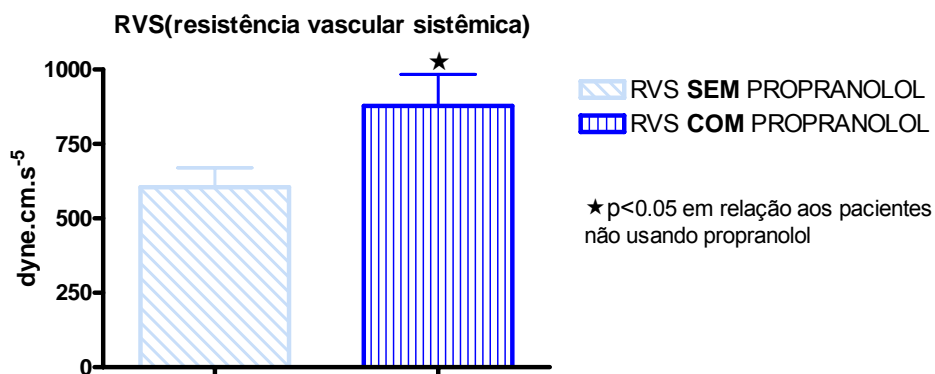


GRÁFICO 26 - Resistência vascular sistêmica (RVS) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

O índice de resistência vascular sistêmica dos pacientes cirróticos usando propranolol cronicamente apresentou-se aumentado quando comparado aos pacientes cirróticos não usando propranolol (GRAF. 27, TAB. 9).

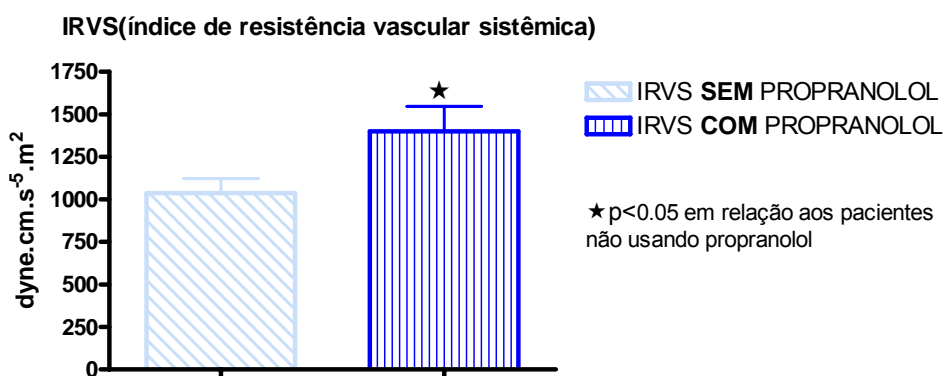


GRÁFICO 27 - Índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

TABELA 9
Efeito hemodinâmico sistêmico do uso de propranolol oral em cirróticos descompensados

	Sem propranolol(n)	Com propranolol(n)	p
DC l/min	8,9±0,95(13)	5,6±0,63(8) ψ	p<0,05
IC l/min/m ²	4,7±0,41(13)	3,2±0,30(8) ψ	p<0,05
RVS dyn.s.cm ⁻⁵	604,2±65,04(12)	877,5±106,1(8) ψ	p<0,05
IRVS dyn.s.cm ⁻⁵ .m ²	1036±86(11)	1399±147,4(8) ψ	p<0,05

ψ =diferença significativa em relação aos sem propranolol

4.4 Resultados do perfil plasmático sistêmico dos pacientes cirróticos descompensados ambulatoriais em uso ou não propranolol

A atividade de renina plasmática mostrou-se reduzida nos pacientes cirróticos descompensados usando propranolol cronicamente em relação aos que não usavam (GRAF. 28, TAB. 10).

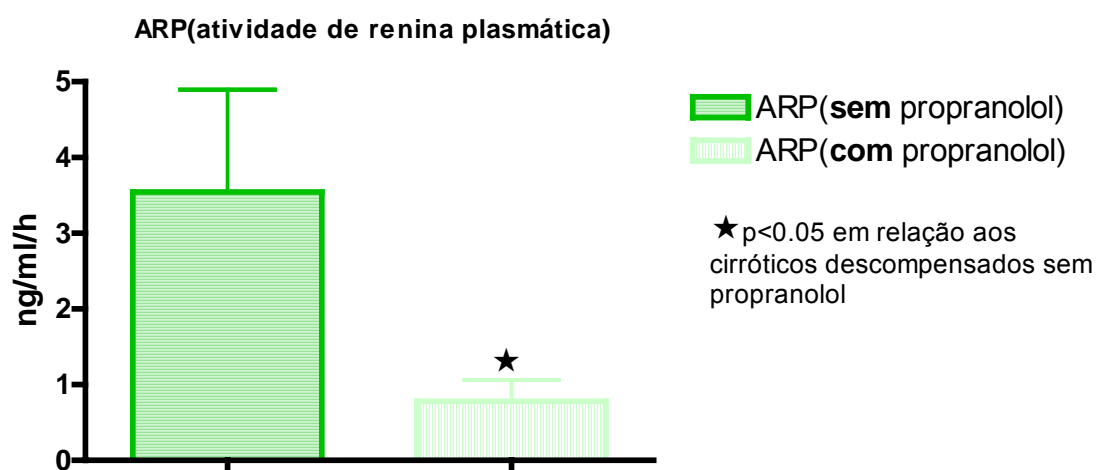


GRÁFICO 28 - Atividade de renina plasmática (ARP) sistêmica, circulante, em pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

A concentração plasmática periférica de AngI foi reduzida pelo uso crônico de propranolol nos pacientes cirróticos descompensados (GRAF. 29, TAB. 10).

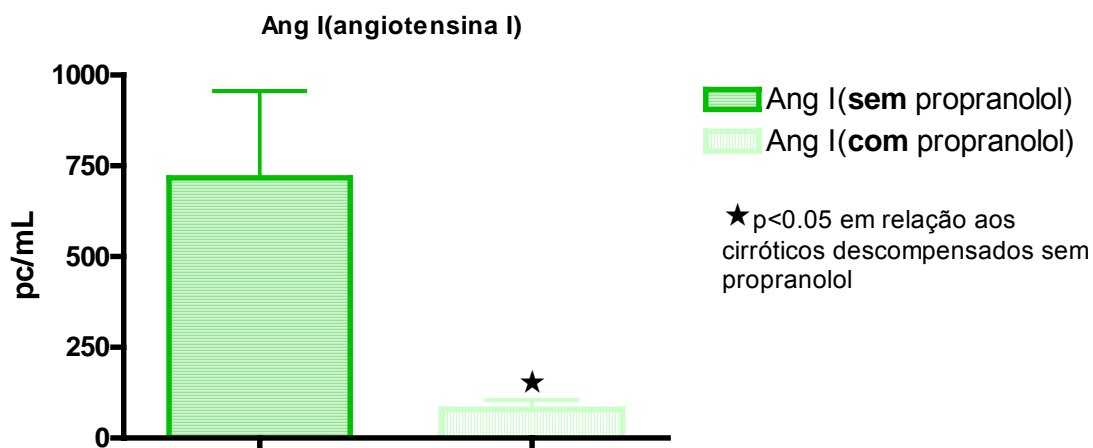


GRÁFICO 29 - ANG I plasmática, sistêmica, circulante, em pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

A concentração plasmática periférica de AngII foi reduzida pelo uso crônico de propranolol nos pacientes cirróticos descompensados (GRAF. 30, TAB. 10).

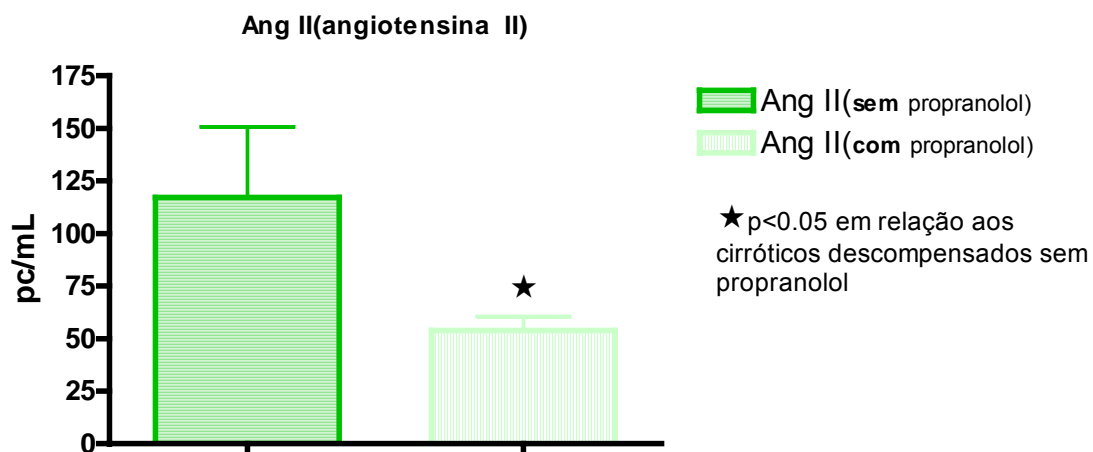


GRÁFICO 30 - ANG II plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

A concentração plasmática periférica de Ang1-7 tendeu a reduzir-se nos pacientes cirróticos usando cronicamente propranolol, mas não houve diferença estatisticamente significativa com aqueles que não usavam propranolol (GRAF. 31, TAB. 10).

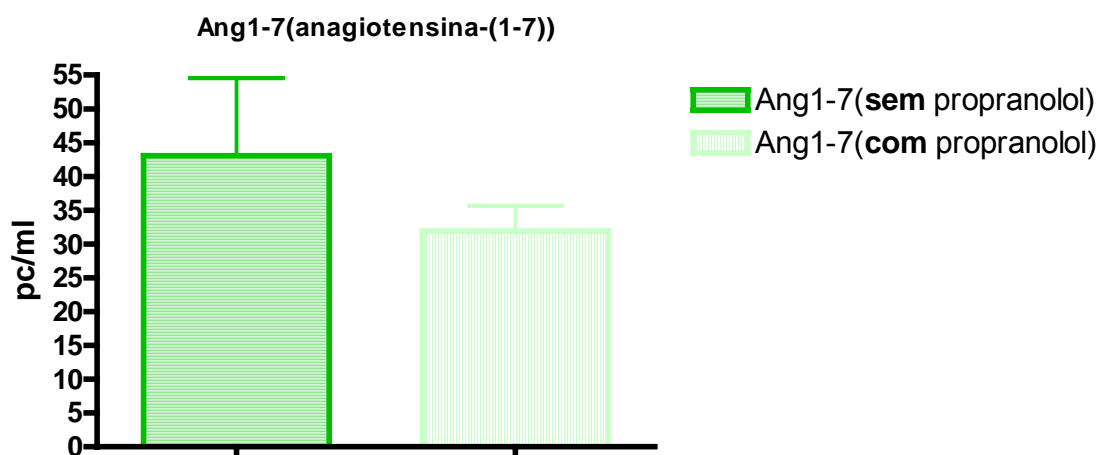


GRÁFICO 31 - ANG1-7 plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

O uso crônico de propranolol pelos pacientes cirróticos descompensados não se relacionou à alteração estatisticamente significativa na relação Ang1-7/AngII plasmática periférica desses pacientes (GRAF. 32, TAB. 10).

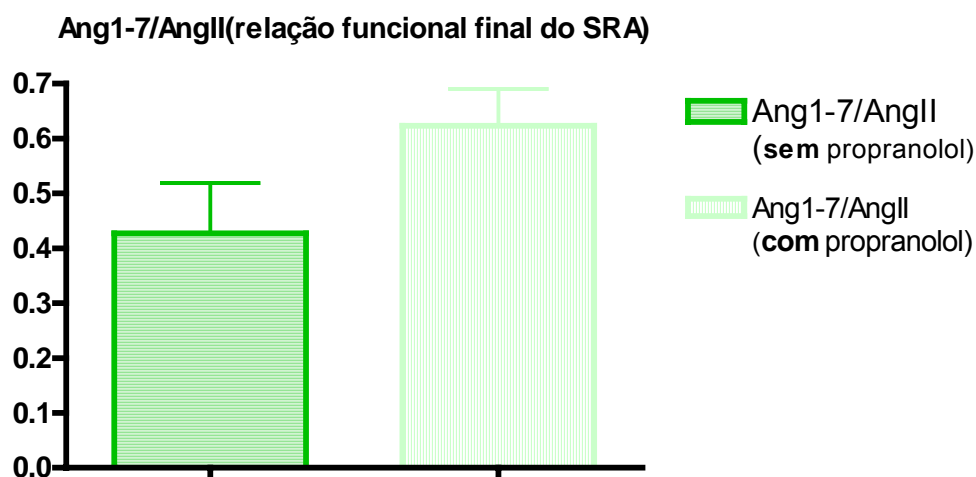


GRÁFICO 32 - Relação ANG1-7/ANGII plasmática, sistêmica, circulante de cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

A relação Ang1-7/AngI plasmática periférica dos pacientes cirróticos descompensados mostrou-se significativamente aumentada naqueles usando cronicamente propranolol (GRAF. 33, TAB. 10).

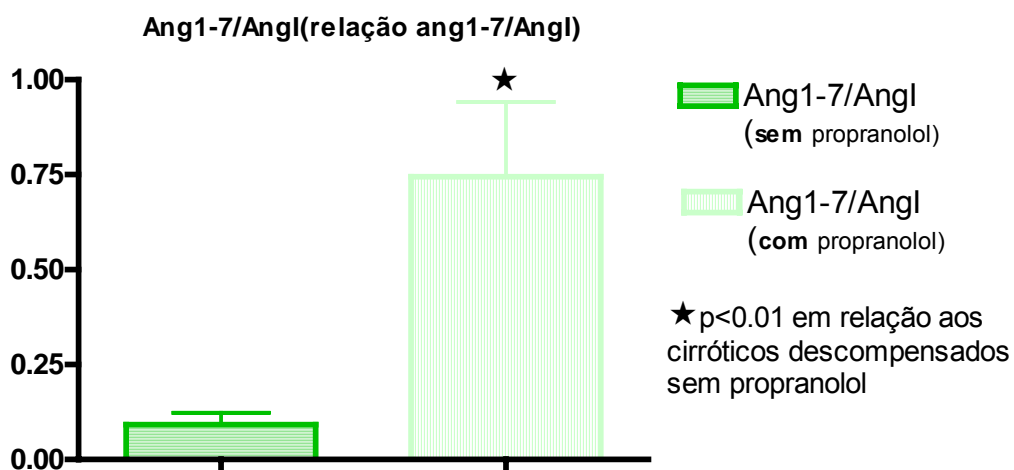


GRÁFICO 33 - Relação ANG1-7/ANGI plasmática, sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados.

A relação AngII/AngI plasmática periférica dos pacientes cirróticos descompensados apresentou-se significativamente aumentada naqueles pacientes usando cronicamente propranolol (GRAF. 34, TAB. 10).

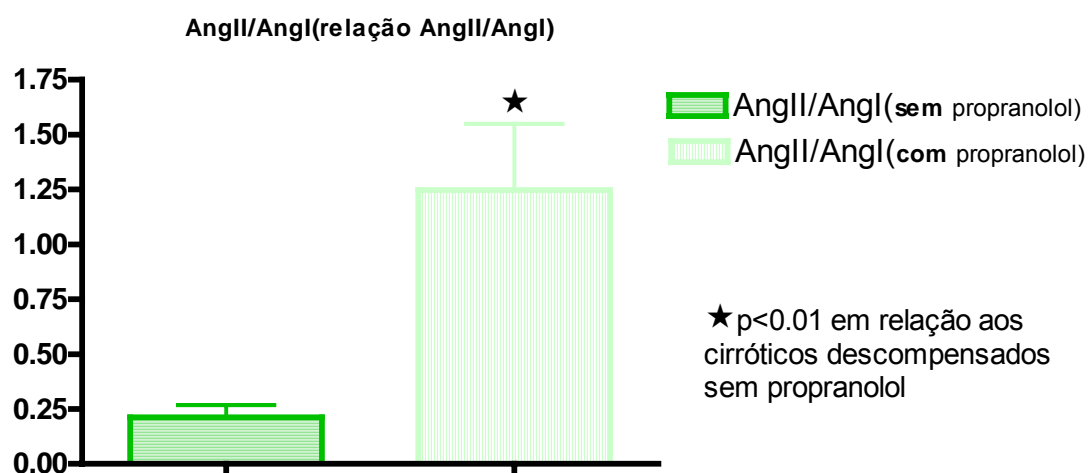


GRÁFICO 34 - Relação ANGII/ANGI sistêmica, circulante, de pacientes cirróticos descompensados usando ou não propranolol.

TABELA 10

Efeito do propranolol no SRA periférico de cirróticos descompensados

	Sem propranolol(n)	Com propranolol(n)	p
ARPng/ml/h	3,54±1,35(7)	0,77±0,28(9) Ω	p<0,05
Ang I pg/ml	717±239(7)	79,82±24,77(9) Ω	p<0,05
AngII pg/ml	117,2±33,48(7)	53,90±6,52(9) Ω	p<0,05
Ang1-7 pg/ml	43,04±11,47(7)	31,92±3,75(9)	Erroβ=0.31
Ang1-7/AngII	0,42±0,09(7)	0,62±0,06(9)	Erroβ<0.20
Ang1-7/AngI	0,09±0,03(7)	0,7±0,1(9) Ω	p<0,01
AngII/AngI	0,21±0,05(7)	1,24±0,3(9)Ω	p<0,01

Ω=diferença significativa em relação aos sem propranolol.

5 DISCUSSÃO

5.1 Perfil plasmático sistêmico do SRA nos pacientes cirróticos compensados e descompensados

Medindo o nível de ativação do SRA circulante pela quantificação plasmática dos componentes iniciais da sua cascata enzimática (ARP, AngI), os resultados mostraram que o nível de ativação do sistema é igual entre controles não cirróticos e cirróticos compensados ou pré-ascíticos, mas está aumentado nos cirróticos descompensados ou ascíticos. A ARP e a concentração plasmática de AngI, componentes iniciais necessários para ambos os eixos ou vias do SRA (via ECA/AngII e via ECA2/Ang1-7), não têm diferença entre controles não cirróticos e cirróticos compensados, mas estão bastante aumentadas nos cirróticos descompensados. O aumento da ARP e a concentração plasmática da AngI também foram demonstrados no modelo experimental de cirrose, usando-se ratos com ligadura de colédoco, a partir da quarta semana de cirurgia, quando os animais já apresentam ascite (PEREIRA *et al.*, 2007).

Os níveis circulantes de AngII estão bastante aumentados nos cirróticos descompensados quando comparados com os controles não cirróticos e cirróticos compensados. E, ainda, os níveis circulantes de AngII nos cirróticos compensados estão reduzidos em relação aos controles não cirróticos, já sugerindo diferença na direção ou eixo do SRA circulante em cada uma das fases (pré-ascítica e ascítica) da cirrose hepática em relação aos controles não cirróticos. Apenas Girgrah *et al.* (2000), ao estudarem os efeitos da administração aguda de um antagonista do receptor AT1 a pacientes cirróticos pré-ascíticos, relataram essa redução de AngII nesses pacientes em comparação com os controles (GIRGRAH *et al.*, 2000). Outros trabalhos, no entanto, descreveram aumento de AngII (HELMY *et al.*, 2000) ou SRA circulante sistêmico ainda não ativado (DEBERNARDI-VENON *et al.*, 2007).

Os níveis circulantes de Ang1-7 mostraram-se como os de AngII, também muito elevados nos cirróticos descompensados em relação aos cirróticos compensados e controles não cirróticos. O produto final do SRA circulante em

cada uma das fases da cirrose depende das proporções relativas de cada um dos seus peptídeos finais biologicamente ativos (AngII e Ang1-7). Uma relação Ang1-7/AngII aumentada significa predomínio do eixo ECA2/Ang1-7 e, se reduzida, predomínio do eixo ECA/AngII, sendo o eixo ECA2/Ang1-7 um eixo vasodilatador e o eixo ECA/AngII um eixo vasoconstritor. A relação Ang1-7/AngII é proporcional ou tem relações estreitas e diretas com a relação ECA2/ECA (FERRARIO; TRASK; JESSUP, 2005; HERATH *et al.*, 2007).

Os resultados revelaram que as duas fases clínicas da cirrose mostraram SRA circulante com nível de ativação e direções diferentes. No cirrótico compensado, o SRA circulante não está superativado, mas há mudança de eixo em relação aos controles, predominando aquele de tendência relativa vasodilatadora (ECA2/Ang1-7). Já no cirrótico descompensado, o SRA circulante está superativado e há nova inversão do eixo do SRA, que volta a ser um eixo de tendência relativa vasoconstritora (ECA/AngII). Isto ficou demonstrado pelas diferenças nas relações Ang1-7/AngII nas duas fases da cirrose hepática.

A literatura, com o modelo experimental de cirrose com ligadura do ducto biliar comum em ratos, referencia resultados semelhantes na fase de descompensação da cirrose (que corresponde aos ratos após a quarta semana da cirurgia de ligadura do ducto biliar comum): a superativação do SRA circulante, com elevação significativa dos níveis plasmáticos de ARP e AngI (PEREIRA, *et al.*, 2007) e de AngII e Ang1-7 (HERATH *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2007).

Já em relação à fase de cirrose compensada (pré-ascítica, que corresponde aos ratos entre a segunda e a quarta semanas da cirurgia de ligadura do ducto biliar comum), os trabalhos com modelos experimentais exibiram resultados não muito concordantes. Enquanto Pereira *et al.* (2007) constataram elevações nos níveis plasmáticos tanto de Ang1-7 e AngII desde as fases iniciais da ligadura do ducto biliar comum em ratos, Herath *et al.* (2007) encontraram elevação plasmática de Ang1-7 só na fase de descompensação e elevação seguida de redução e novamente elevação nos níveis plasmáticos de AngII (elevação bifásica).

Os resultados deste trabalho aproximam-se mais do segundo grupo, já que os níveis plasmáticos de Ang1-7 não tiveram elevações significativas nos cirróticos compensados, como ocorreu com os cirróticos descompensados. E os níveis plasmáticos de AngII estavam reduzidos nos pacientes cirróticos

compensados, só se elevando nos cirróticos descompensados. O nível plasmático de AngII nos cirróticos compensados reduzido em relação aos controles pode estar relacionado à elevação na atividade e nível plasmático de ECA2 nessa fase da doença, como detectado por Herath *et al.* após a terceira semana de ligadura do ducto biliar em ratos (ratos cirróticos, mas ainda não ascíticos), já que a ECA2 é 400 vezes mais potente, tendo como substrato AngII que AngI.

As relações Ang1-7/AngI e AngII/AngI são medidas indiretas da atividade de ECA2 e ECA, respectivamente. Representam a proporção de AngI que é metabolizada, a Ang1-7 e AngII, avaliando os dois eixos enzimáticos do SRA. Os pacientes cirróticos compensados deste estudo, em uso das relações Ang1-7/AngI e AngII/AngI, mostraram atividade aumentada de ECA2 em relação aos controles hígidos e atividade de ECA não diferente desses controles. Herath *et al.*, não de forma indireta, mas medindo atividade e dosando níveis plasmáticos, também demonstraram essas mesmas alterações (aumento de ECA2 ainda sem aumento de ECA), só que em ratos com ligadura do ducto biliar comum na terceira semana de cirurgia (ainda sem ascite) e não em humanos.

A ECA2 tem capacidade de gerar grandes quantidades de Ang1-7 a partir de AngII, mas existe um nível importante de ECA nos cirróticos compensados (ele não se reduziu em relação aos controles), degradando Ang1-7. Já nos pacientes cirróticos descompensados, apesar dos níveis plasmáticos elevados de Ang1-7 e AngII em relação aos controles hígidos e pacientes cirróticos compensados, nossas medidas indiretas de atividade de ECA2 e ECA mostraram-se reduzidas em relação aos últimos. Os pacientes cirróticos descompensados tiveram a base do SRA circulante ativada (aumento de ARP e AngI muito importante), que levou ao aumento também acentuado dos peptídeos biologicamente ativos finais (Ang1-7 e AngII). Estes, por sua vez, determinariam algum tipo de *feedback* negativo sobre a atividade das principais enzimas do SRA.

Na literatura experimental, logo no início da descompensação (após a quarta semana de ligadura do ducto biliar comum em ratos) da cirrose, foram detectados níveis plasmáticos e atividade de ECA2 e ECA elevados. Após esse período de experimentação (além de quatro semanas), não houve dados em relação à ECA e ECA2 e suas atividades, podendo os pacientes cirróticos descompensados da presente pesquisa ter mais tempo de evolução da

descompensação, motivo pelo qual se comportaram diferentemente dos ratos logo após quatro semanas de ligadura do ducto biliar comum. E também a atividade de ECA e ECA2 na literatura não é determinada no contexto fisiopatológico *in vivo*.

Os pacientes cirróticos descompensados estavam em uso de diuréticos para tratamento da ascite, o que poderia estar acentuando a hipovolemia relativa da fase fisiopatológica final da cirrose hepática e favorecendo ainda mais o eixo ECA/AngII dessa fase. Por outro lado, um dos diuréticos usados foi a espironolactona (antagonista de aldosterona), diretamente relacionada ao SRA, que, além do seu efeito diurético, tem descritas ações de reduzir ECA e elevar ECA2 em pacientes com insuficiência cardíaca (KEIDAR *et al.*, 2005), favorecendo o outro eixo do SRA (ECA2/Ang1-7). O efeito final dos diuréticos usados na cirrose hepática e descritos na literatura são de estímulo do SRA circulante, favorecendo o eixo ECA/AngII. No entanto, tais fármacos não são os únicos responsáveis por essa ação nessa fase, uma vez que a suspensão dos mesmos reduz, porém não normaliza, os níveis de atividade de renina plasmática (ARP) - (KALAMBOKIS *et al.*, 2006).

Como disfunção circulatória, a cirrose hepática pode apresentar hipertensão portal e circulação sistêmica hiperdinâmica, caracterizada por alto débito cardíaco e baixa resistência vascular periférica total (VAUGHAN; CHINDUSTING, 2003).

A circulação hiperdinâmica associada à cirrose é inicialmente devida à vasodilatação arterial na circulação esplâncnica secundária à hipertensão portal. Essa vasodilatação esplâncnica associa-se à retenção renal de água e sódio. Nas fases iniciais da doença, enquanto a ascite não se desenvolveu, a homeostase circulatória é mantida pelo desenvolvimento da circulação hiperdinâmica (alto volume plasmático, índice cardíaco e frequência cardíaca). Contudo, quando a doença progride e a vasodilatação arterial esplâncnica continua aumentando, esse mecanismo compensatório é insuficiente para manter a homeostase circulatória, a pressão arterial reduz e ocorre aumento da atividade do sistema nervoso simpático, SRA (eixo ECA/AngII) e níveis circulantes de hormônio antidiurético, com mais retenção renal de sódio e água (BLENDIS; WONG, 2001). Na fase inicial da cirrose, a manifestação clínica da circulação sistêmica hiperdinâmica associa-se ao redirecionamento para o eixo ECA2/Ang1-7, ao

contrário da fase final, na qual, como já dito, coexiste superativação do SRA com retorno do predomínio do eixo ECA/AngII.

Paralelamente à disfunção circulatória da cirrose e participando de sua fisiopatologia, acontece a disfunção renal da cirrose. A habilidade reduzida de excretar sódio e água livre e a redução na perfusão renal e ritmo de filtração glomerular são as três principais anormalidades renais na cirrose hepática (GINÈS *et al.*, 1997). Cronologicamente, a primeira anormalidade na função renal que ocorre na cirrose é a redução no metabolismo renal de sódio, com anormalidades sutis na excreção de sódio renal e aumento do volume plasmático. Essa situação pode ser detectada antes do desenvolvimento de ascite, quando a doença é ainda considerada compensada e nenhum dos principais sistemas retentores de sal conhecidos do organismo está ativado (SNS, SRA-aldosterona, hormônio antidiurético) - (SALÓ *et al.*, 1995), nem os excretos estão inibidos (peptídeos natriuréticos) - (FERNANDEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 1994).

É interessante que algumas dessas anormalidades desenvolvem-se em pacientes com mais alta pressão de veia porta e mais baixa resistência vascular periférica total, indicando relação com a deterioração da função circulatória. Investigações de manipulação intra-renal de sódio nesses pacientes sugerem que a retenção ocorre predominantemente no nefron distal (ANGELI *et al.*, 1990). A Ang1-7 proporcionalmente aumentada em relação à AngII (Ang1-7/AngII) circulante nos pacientes cirróticos pré-ascíticos, quando comparados com os não cirróticos e cirróticos descompensados, pode estar relacionada com essa retenção de sódio inicial do paciente cirrótico, já que seu efeito natriurético ou retentor de sódio vai variar, entre outros, com as concentrações atingidas no rim (KUCHAREWICZ *et al.*, 2002; VAN DER WOUDE *et al.*, 2006).

A Ang1-7 possui atividade vasodilatadora direta e potente atividade potenciadora da bradicinina (PAULA *et al.*, 1995; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS, 1994). O efeito potenciador da bradicinina desencadeado por essa angiotensina pode ser visto como um importante ponto de cruzamento entre os sistemas renina-angiotensina e caliceína-cininas. Parece que tal ação envolve a liberação de prostaglandinas e óxido nítrico já vista em ratos e cães (LI *et al.*, 1997). A produção sistêmica de NO está aumentada em pacientes e modelos animais cirróticos (ATUCHA *et al.*, 2005; GARCIA-ETAN; ORTIZ; LEE, 2002). Essa liberação basal sistêmica aumentada de NO tem papel importante na

patogênese da vasodilatação e hipocontratilidade associadas à hipertensão portal. Além disto, a liberação basal aumentada de PGI₂ parece influenciar também na patogênese da vasodilatação e hipocontratilidade vascular associada à hipertensão portal.

A produção corporal total de PGI₂ está aumentada em animais com hipertensão portal (OHTA *et al.*, 1995). E os níveis de PGI₂ venoso portal são substancialmente mais elevados em animais com hipertensão porta e pacientes cirróticos, o que sugere que a liberação venosa portal de PGI₂ exerce importante papel no desenvolvimento da hiperemia esplâncnica, circulação colateral e gastropatia portal hipertensiva (OHTA *et al.*, 1995). Estudos têm sugerido que NO e PGI₂ são os reguladores predominantes do fluxo sanguíneo arterial mesentérico na hipertensão portal. Entre as substâncias vasoativas relacionadas com a hiperemia esplâncnica e hipocontratilidade vascular do paciente cirrótico, é possível a participação direta e indireta da Ang1-7 a partir de sua ação vasodilatadora liberando óxido nítrico e PGI₂. Entretanto, apesar da resposta pressora preferencial ao bloqueio da eNOS e COX ou a combinação de ambos (FERNANDEZ *et al.*, 1996), o fluxo sanguíneo da artéria mesentérica superior ainda permanece significativamente elevado na hipertensão portal, implicando que, em adição a PGI₂ e NO, outras substâncias vasoativas também podem estar envolvidas.

Portanto, o SRA parece participar da etiologia e fisiopatologia de toda a evolução da cirrose hepática. Inicialmente, como confirmado por outros autores (PAIZIS *et al.*, 2002; 2005; ZHANG *et al.*, 2003), a AngII tem importante participação no desenvolvimento da fibrose hepática e conseqüente hipertensão porta. A seguir, em resposta à hipertensão porta, ocorre hiperemia esplâncnica (vasodilatação) com retenção subclínica de sódio e aumento da volemia (fase pré-ascítica), que pode estar relacionada com a mudança de direção do SRA circulante para o eixo ECA2/Ang1-7, como demonstrado pela maior relação Ang1-7/AngII (tendência vasodilatadora) dessa fase. Finalmente, por se perpetuarem as duas fases anteriores, ocorre hipovolemia relativa (o aumento da volemia e a circulação hiperdinâmica passam a ser insuficientes) e o SRA é superativado periféricamente para manter a perfusão dos tecidos, como evidenciado pela retomada da direção do SRA circulante para o eixo ECA/AngII, representado pela

redução da relação Ang1-7/AngII (tendência vasoconstritora) dos pacientes cirróticos descompensados (GRAF. 35).

SRA X FASES CIRROSE HEPÁTICA X HEMODINÂMICA

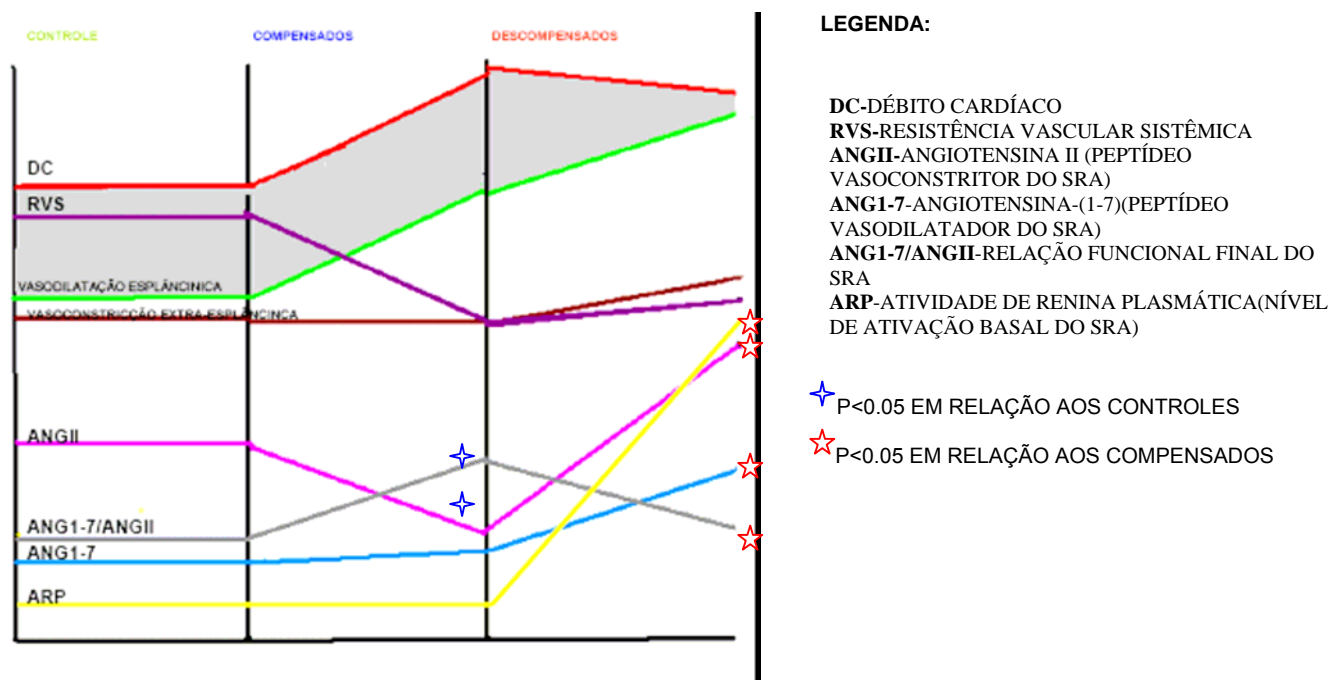


GRÁFICO 35 - SRA plasmático periférico *versus* fases da cirrose hepática *versus* hemodinâmica.

5.2 Perfil plasmático do SRA periférico e esplâncnico nos pacientes cirróticos descompensados sob transplante hepático

Como já descrito na literatura, os pacientes cirróticos descompensados apresentaram parâmetros hemodinâmicos compatíveis com a circulação hiperdinâmica (alto débito cardíaco e baixa resistência vascular periférica) - (TAB. 7). A anestesia geral balanceada utilizada para o procedimento cirúrgico não produz circulação hiperdinâmica nas doses empregadas (1CAM de isoflurano + 5µg/kg de fentanil + relaxante muscular adespolarizante). O isoflurano a 1 CAM no máximo pode reduzir o IC em 1l/min/m² e a RVS em 100 dyn.s.cm⁻⁵ (MALAN *et al.*, 1995). Já o fentanil nas doses utilizadas não altera IC ou RVS. Essa alteração

é característica dos pacientes cirróticos, tendo já sido descrita em pacientes cirróticos que não estão sob anestesia geral (LIU; GASKAR; LEE, 2006).

Utilizando como parâmetros de ativação do SRA os componentes iniciais da sua cascata enzimática (ARP e AngI), observou-se que os níveis de ativação não diferiram na circulação regional esplâncnica (veia porta) e circulação periférica (artéria radial). Mas as concentrações dos peptídeos biologicamente ativos do SRA mostraram diferenças nessas duas circulações. Na região esplâncnica, na qual há acentuada vasodilatação no paciente cirrótico (ARROYO; TERRA; GINÈS, 2007; GINÈS *et al.*, 2004), a concentração do peptídeo vasodilatador do SRA (Ang1-7) não difere daquela da circulação sistêmica (artéria radial), mas o peptídeo vasoconstritor do SRA (AngII) está reduzido na região esplâncnica. Essa redução regional do peptídeo vasoconstritor implica alteração na relação funcional final do SRA (Ang1-7/AngII) naquela região, podendo favorecer a vasodilatação.

Periféricamente, a alteração relativa da relação funcional Ang1-7/AngII favorecendo AngII e vasoconstrição é compatível com a vasoconstrição extra-esplâncnica que ocorre nessa fase da cirrose hepática (ARROYO; TERRA; GINÈS, 2006; 2007). Parece haver SRA ativado tanto regionalmente quanto periféricamente, entretanto, as vias enzimáticas predominantes são diferentes. Na circulação esplâncnica predomina a via ECA2/Ang1-7 e na circulação periférica a via ECA/AngII. Os valores da relação funcional do SRA na veia porta do paciente cirrótico descompensado lembram aqueles da veia periférica do paciente cirrótico compensado ambulatorial, sugerindo que as alterações do SRA extra-hepáticas dos pacientes cirróticos compensados iniciem-se no fígado e na circulação esplâncnica. Esse fato está em consonância com os achados na literatura com modelos experimentais, a partir da detecção de alta correlação estatística entre ECA2 plasmática e atividade de ECA2 hepática (HERATH *et al.*, 2007).

Inicialmente, uma relação com tendência vasodilatatória na circulação esplâncnica é uma resposta à resistência vascular intra-hepática (hipertensão porta). Essa tendência vasodilatadora esplâncnica estende-se sistemicamente, sendo detectada periféricamente ainda antes da descompensação do paciente cirrótico. A partir de dado momento, a vasodilatação sistêmica cursa com hipovolemia relativa e ativa os sistema de manutenção de perfusão tecidual (SNS, SRA, ADH) do organismo. Nesse momento, o SRA circulante sistêmico passa a

ser direcionado para a via ECA/AngII, diferindo do SRA esplâncnico que, em resposta à hipertensão portal, está direcionado para a via ECA2/Ang1-7. No mesmo paciente e ao mesmo tempo encontra-se o SRA regional (esplâncnico) diferente do SRA circulante periférico. A relação que indiretamente indica a atividade de ECA2 não mostra diferença entre o SRA local e periférico, já a relação que indiretamente indica a atividade de ECA mostra-se aumentada na circulação periférica em relação à circulação esplâncnica.

Apesar do predomínio relativo de uma via vasoconstritora na circulação periférica dos pacientes cirróticos descompensados, ela não é suficiente para normalizar a resistência vascular periférica destes. A relação funcional dos peptídeos biologicamente ativos do SRA periférico nos pacientes cirróticos descompensados aproxima-se daquela de pacientes-controle hígidos, mas a repercussão hemodinâmica não é a mesma, uma vez que os parâmetros hemodinâmicos sistêmicos de cirróticos são muito diferentes daqueles de pacientes hígidos (TAB. 7).

Nos cirróticos descompensados, há deslocamento da curva de correlação Ang1-7/AngII *versus* RVS para a esquerda ou redução da resposta a sistemas vasoconstritores endógenos ativados ou exógenos já sugerida (ANDREU *et al.*, 2002; BATTAGLIA; ANGUS; CHIN-DUSTING, 2006). A medida da resistência vascular periférica realizada é global sistêmica, que não possibilita diferenciações regionais, mas, como se sabe, esse valor global está abaixo dos valores normais para pacientes saudáveis. Pode-se supor que, apesar da vasoconstrição periférica, a vasodilatação esplâncnica é importante e representa muito dessa medida global de resistência vascular periférica que este estudo obteve, como já sugerido por outros autores (IWAO *et al.*, 1997).

Confirmando a participação do SRA na homeostase hemodinâmica do organismo, teve-se correlação negativa estatisticamente significativa entre a relação funcional Ang1-7/AngII na artéria radial e a RVS nos pacientes cirróticos, ou seja, quanto maior a tendência vasodilatadora da relação, menor a RVS. Com o débito cardíaco, houve correlação positiva com a relação Ang1-7/AngII na artéria radial. Quanto maior a tendência vasodilatadora da relação funcional do SRA, maior o débito cardíaco. Essas correlações estatísticas significativas mais uma vez confirmam a importância do SRA na determinação do tônus vasomotor

do organismo, agora numa situação patogênica. Ao mesmo tempo, não deixam de validar a relação Ang1-7/AngII como uma relação funcional final do SRA.

Entretanto, apesar dessas correlações hemodinâmicas sistêmicas com a relação funcional do SRA (razão dos peptídeos biologicamente ativos) nos pacientes cirróticos serem estatisticamente significativas ($p < 0,05$), elas não são muito fortes, indicando que no máximo 50% (r^2) das medidas hemodinâmicas são explicadas pela relação funcional final do SRA.

Outras substâncias e sistemas (SNS, ADH, PGI₂, canabinóides, NO) provavelmente são importantes no produto hemodinâmico sistêmico final dos pacientes cirróticos (BATTAGLIA; ANGUS; CHIN-DUSTING, 2006; IWAKARI; GROSZMANN, 2007).

A produção de Ang1-7 a partir da AngI não difere entre as circulações esplâncnica e periférica. A produção de AngII a partir de AngI é maior na circulação periférica, sugerindo que a diferença entre o sistema esplâncnico e periférico está na produção periférica de AngII aumentada nessa fase. Já a produção de Ang1-7 está aumentada igualmente, regional e perifericamente.

5.3 Efeito do uso crônico de propranolol no perfil plasmático do SRA na veia porta e nos parâmetros hemodinâmicos de pacientes cirróticos descompensados sob transplante

O propranolol, um β -bloqueador não seletivo, é amplamente usado no tratamento farmacológico de hipertensão da veia porta. Sua eficácia tem sido comprovada para a prevenção do primeiro sangramento e para ressangramentos de varizes de esôfago (BANARES *et al.*, 1999). Contudo, para alcançar proteção efetiva contra esses sangramentos, a diferença entre a pressão venosa hepática encunhada e a pressão venosa hepática livre, usualmente chamada de gradiente de pressão venosa hepática (HVPG), tem que ser reduzida para ≤ 12 mmHg ou, no mínimo, em 20% dos valores de base. A resposta da HVPG ao propranolol é heterogênea, com menos de um terço dos pacientes alcançando tal redução no HVPG (BANARES *et al.*, 1999; BOSCH; ABRALDES; GROSZMANN, 2003).

O efeito do propranolol de reduzir a pressão portal a partir da redução do fluxo venoso portal tem sido explicado como resultado da redução no débito

cardíaco (bloqueio β_1 -adrenérgico) e no fluxo sanguíneo esplâncnico (bloqueio β_2 -adrenérgico) - (GROSZMANN *et al.*, 2005). Além dos efeitos hemodinâmicos esplâncnicos, o propranolol usado em pacientes cirróticos modifica também a hemodinâmica sistêmica, aumentando a resistência vascular periférica e reduzindo débito e índice cardíacos (ANDREU *et al.*, 2002; BANARES *et al.*, 1999; MOLLER; BENDTSEN; HENRIKSEN, 2001), revertendo, desta forma, a circulação hiperdinâmica da cirrose hepática, que é o primeiro mecanismo de compensação desenvolvido pelo organismo para contrabalançar a vasodilatação esplâncnica.

Como a disfunção circulatória da cirrose, e não a falência do hepatócito em si, é o grande fator de risco de morbimortalidade da doença (BOSCH; ABRALDES; GROSZMANN, 2003), o uso do propranolol por pacientes cirróticos deveria melhorar o prognóstico dos mesmos, uma vez que seu uso pode se relacionar à redução da hipertensão da veia porta e da circulação hiperdinâmica. Entretanto, a literatura é controversa e tal benefício ainda não foi definitivamente comprovado para todos os pacientes cirróticos. Enquanto alguns trabalhos mostram que se a redução adequada no HVPG é alcançada há mais baixos riscos de ascite, peritonite espontânea, síndrome hepatorenal e morte (BOSCH; ABRALDES; GROSZMANN, 2003), outros relataram que o uso do β -bloqueio não seletivo em pacientes com cirrose não selecionados não preveniu varizes de esôfago, ascite, encefalopatia ou transplante de fígado e teve aumento de eventos adversos quando relacionados aos controles em uso de placebo durante cinco anos (GROSZMANN *et al.*, 2005).

O principal alvo de ação dos β -bloqueadores não seletivos nos pacientes cirróticos é o estado de circulação hiperdinâmica esplâncnica e sistêmica, que é um importante fator de manutenção da hipertensão da veia porta. Assim, o melhor resultado do seu uso seria em uma fase já com essa circulação hiperdinâmica bem evidente, o que pode não ter sido observado no trabalho de Groszmann *et al.* (2005).

Outros mecanismos que não o bloqueio dos β -receptores adrenérgicos podem estar envolvidos na ação dos β -bloqueadores não seletivos na redução da hipertensão da veia porta e circulação hiperdinâmica da cirrose. Já foi descrito que β -bloqueadores não seletivos inibem o SRA (BLUMENFELD *et al.*, 1999) e, como esse sistema é um dos principais reguladores hemodinâmicos do

organismo, é provável que sua inibição pelo uso crônico do propranolol na cirrose participe da redução da hipertensão da veia porta e da circulação hiperdinâmica determinada por esse fármaco.

Ao estudar o SRA plasmático regional na veia porta, observou-se redução estatisticamente significativa em todos os componentes dosados do sistema (ARP, AngI, AngII, Ang1-7) nos pacientes em uso crônico de propranolol. A relação entre os peptídeos biologicamente ativos do SRA, Ang1-7/AngII, provável indicador funcional final do SRA sobre o tônus vasomotor, apesar de não demonstrar diferença estatística na veia porta dos pacientes cirróticos usando ou não propranolol, apresentou tendência à vasoconstrição relativa na veia porta dos pacientes usando propranolol. Uma relação Ang1-7/AngII reduzida poderia ser um mecanismo coadjuvante na redução do fluxo sanguíneo portal causada pelo uso do propranolol em cirróticos.

O uso crônico de propranolol oral inibiu o SRA esplâncnico no início da sua cascata enzimática; as principais enzimas do sistema (ECA2, ECA) provavelmente não são inibidas, como demonstrado pelas relações Ag1-7/AngI e AngII/AngI. Ao contrário, no caso de AngII/AngI, a atividade esteve aumentada em relação aos pacientes que não usavam o propranolol.

Quanto à hemodinâmica sistêmica, os resultados desta pesquisa se assemelham aos da literatura (BANARES *et al.*, 1999; MOLLER; BENDTSEN; HENRIKSEN, 2001), ou seja, houve redução do débito e do índice cardíacos e aumento do índice e da resistência vascular sistêmica com o uso de propranolol em pacientes cirróticos, resultado do seu efeito bloqueador dos receptores β_1 e β_2 adrenérgicos. E se foi uma circulação hiperdinâmica insuficiente para perfusão dos órgãos que ativou o SRA circulante sistêmico, o tratamento dessa disfunção circulatória pelo uso do propranolol poderia indiretamente estar também inibindo a ativação do SRA.

5.4 Efeito do uso crônico de propranolol no perfil plasmático periférico do SRA de pacientes cirróticos descompensados

Os resultados sugerem que o uso crônico de propranolol pelos pacientes cirróticos descompensados relacionou-se com a redução geral do nível

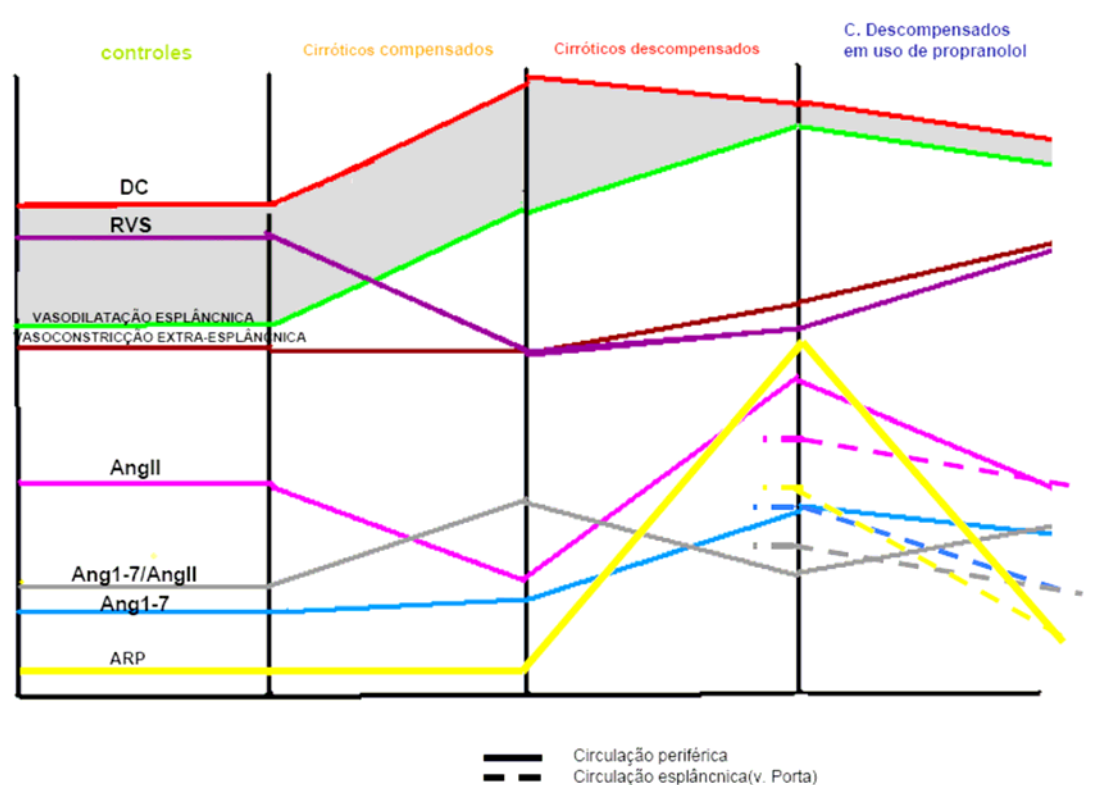
de atividade de SRA plasmático periférico desses pacientes, como demonstrado anteriormente também na circulação esplâncnica. Houve redução estatisticamente significativa de praticamente todos os peptídeos da cascata metabólica do SRA dosados. A ARP, a AngI e a AngII mostraram-se reduzidas no plasma da circulação periférica dos pacientes cirróticos usando propranolol. A Ang1-7, apesar de não apresentar redução estatisticamente significativa nessa situação, demonstrou tendência. As principais enzimas do SRA - ECA e ECA2 - parecem não estar inibidas com o uso crônico do propranolol, pois relações que indiretamente demonstrariam suas atividades (AngII/AngI e Ang1-7/AngI), pelo contrário, mostraram-se elevadas de forma significativa nos pacientes cirróticos usando propranolol.

Apesar de não haver significado estatístico, a relação funcional do SRA (Ang1-7/AngII) na circulação periférica de pacientes cirróticos descompensados usando propranolol tendeu a valores da fase fisiopatológica inicial da cirrose hepática - a fase da cirrose compensada ou pré-ascítica - uma relação de tendência vasodilatadora. Portanto, o aumento da RVS observado com o uso de propranolol parece não ser resultado do seu efeito no SRA periférico.

Provavelmente, ocorreu inibição na base, especificamente no início da cascata enzimática do SRA pelo uso do propranolol, determinando a redução de todos os substratos/peptídeos seguintes da cascata. Já foi demonstrado, em pacientes normotensos e hipertensos, que o uso do propranolol suprime os níveis de AngII plasmática em paralelo com marcada redução na ARP, por reduzir o processamento de pró-renina em renina sem afetar a expressão do gene (pró)renina (BLUMENFELD *et al.*, 1999). O carvedilol (β e α_1 -bloqueador adrenérgico), e não o propranolol (β -bloqueador adrenérgico), parece inibir a produção basal e estimulada de ECA por células endoteliais humanas (SAIJONMAA; NYMAN; FYHRQUIST, 2004). Diante de um tônus simpático aumentado, o carvedilol promove o bloqueio do receptor AT1 via seu efeito de bloquear o receptor α_1 (cruzamento dos receptores AT1- α_1), mas não o propranolol (bloqueador β -adrenérgico apenas) - (BATENBURG *et al.*, 2006). Já na presença de um iECA, o carvedilol parece não reduzir mais a função de ECA (CAMPBELL *et al.*, 2001). Esses dados da literatura parecem corroborar os dados deste trabalho, ou seja, o uso crônico do propranolol pelos pacientes cirróticos

descompensados parece bloquear o SRA no início de sua cascata, mas não suas principais enzimas (ECA,ECA2).

FASES DA CIRROSE HEPÁTICA X HEMODINÂMICA X SRA X PROPRANOLOL



DC-DÉBITO CARDÍACO

RVS-RESISTÊNCIA VASCULAR SISTÊMICA

ANGII-ANGIOTENSINA II (PEPTÍDEO VASOCONSTRITOR DO SRA)

ANG1-7-ANGIOTENSINA-(1-7)(PEPTÍDEO VASODILATADOR DO SRA)

ANG1-7/ANGII-RELAÇÃO FUNCIONAL FINAL DO SRA

ARP-ATIVIDADE DE RENINA PLASMÁTICA(NÍVEL DE ATIVAÇÃO BASAL DO SRA)

O uso do propranolol desativa o SRA na sua base, tanto na circulação esplâncnica quanto periférica, reduzindo os dois peptídeos biologicamente ativos mas sem alterar significativamente a relação funcional final do SRA nessas circulações. Ao mesmo tempo seu uso trata a circulação hiperdinâmica.

GRÁFICO 36 - Alterações cardiocirculatórias e SRA plasmático na cirrose hepática.

6 RESUMO DOS RESULTADOS E DISCUSSÃO (GRAF. 35, 36)

- O SRA circulante, sistêmico tem níveis de ativação diferentes nas fases clínicas da cirrose hepática.
- O SRA circulante, sistêmico tem direções predominantes diferentes nas fases clínicas da cirrose hepática.
- Nos pacientes cirróticos compensados (pré-ascíticos), o SRA circulante, sistêmico não tem nível de ativação aumentado em relação a controles hígidos.
- Nos pacientes cirróticos compensados (pré-ascíticos), o SRA circulante, sistêmico não tem grau de ativação diferente em relação a controles hígidos, mas tem direção predominantemente oposta, ou seja, há predomínio relativo da via vasodilatadora (ECA2/Ang1-7).
- Nos pacientes cirróticos descompensados (ascíticos), o SRA circulante, sistêmico tem nível de ativação aumentado em relação aos pacientes ainda em fase compensada (pré-ascítica) e em relação aos controles hígidos.
- Nos pacientes cirróticos descompensados (ascíticos), o SRA circulante, sistêmico, além de superativado em relação aos pacientes cirróticos compensados, tem direção predominante oposta à deles, ou seja, há novamente (como nos controles hígidos) predomínio relativo da via vasoconstritora (ECA/AngII).
- Apesar do predomínio relativo da via vasoconstritora do SRA circulante, sistêmico dos pacientes cirróticos descompensados, eles permanecem com a resistência vascular sistêmica (RVS) reduzida em relação ao valor considerado normal.
- Apesar da RVS reduzida associada ao predomínio relativo da via vasoconstritora de SRA circulante, sistêmico, a correlação entre SRA e RVS persiste nessa fase. Provavelmente, a curva dessa correlação está desviada para a esquerda em relação aos pacientes-controle hígidos.

- Pacientes cirróticos descompensados (ascíticos) apresentam circulação hiperdinâmica (alto débito cardíaco, baixa RVS) em relação aos valores considerados normais.
- Os pacientes cirróticos descompensados (ascíticos) apresentam SRA esplâncnico (veia porta) e SRA circulante, periférico (artéria radial), com vias predominantes opostas: predomínio da via vasodilatadora na circulação esplâncnica e predomínio da via vasoconstritora na circulação periférica.
- O uso crônico do propranolol (β -bloqueador não seletivo) pelos pacientes cirróticos descompensados reduziu a ativação do SRA circulante, sistêmico para os níveis de controles hígidos.
- Apesar do uso crônico de propranolol pelos pacientes cirróticos descompensados reduzir a ativação do SRA circulante, sistêmico para o nível de pacientes-controle hígidos, as duas principais enzimas que propiciam os dois eixos (direções) do SRA não parecem estar bloqueadas. A ação do propranolol parece ocorrer na fase inicial da cascata enzimática do SRA, as alterações nos passos seguintes seriam consequências do efeito no passo inicial.
- O uso crônico de propranolol pelos pacientes cirróticos descompensados (ascíticos) também reduz o nível de ativação do SRA local, esplâncnico (veia porta). Aqui, como no SRA circulante, sistêmico de pacientes cirróticos descompensados em uso de propranolol, a inibição do sistema parece ocorrer no início da cascata enzimática, sendo as alterações nos passos seguintes da cascata decorrentes dessa alteração inicial. As principais enzimas da cascata, que determinam direções diferentes para o sistema, não parecem inibidas.
- O uso crônico de propranolol pelos pacientes cirróticos descompensados (ascíticos) reduz a circulação hiperdinâmica presente nesses pacientes.

Ao que tudo indica, o SRA participa de todas as fases fisiopatológicas da cirrose hepática, mas nem sempre na mesma direção. O SRA tecidual hepático parece participar do desenvolvimento da fibrose e desarranjo tecidual

hepático da cirrose (PAIZIS *et al.*, 2002; 2005; PEREIRA *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2003). Participa também da vasodilatação esplâncnica (teoria da vasodilatação arterial), conseqüente ao aumento da resistência intra-hepática e hipertensão portal da cirrose. Inicialmente, um SRA esplâncnico localizado em direção oposta ao SRA intra-hepático participa da vasodilatação esplâncnica que por um tempo se estende sistemicamente, levando à vasodilatação arterial sistêmica compensada pela circulação hiperdinâmica. Quando essa circulação hiperdinâmica passa a ser insuficiente para contrabalançar a vasodilatação arterial e há prejuízo na perfusão dos órgãos, ativa-se SRA sistêmico, circulante, numa direção predominantemente oposta à direção circulante até então presente. Nesse momento, esse SRA circulante ativado é muito importante na perfusão dos órgãos, mas não corrige o problema que o ativou, ou seja, SRA esplâncnico voltado para outra direção (vasodilatação), que também tem seu ativador não corrigido - o aumento da resistência intra-hepática (hipertensão porta).

Resumindo, na fase fisiopatológica final da cirrose coexistem SRAs tecidual e circulantes localizado e sistêmico, com direções predominantes diferentes. É, portanto, muito difícil intervir terapêuticamente, mesmo que só paleativamente, na cirrose hepática descompensada, usando nosso armamentário atual para o SRA. Este é um dos prováveis motivos de muitas vezes tais pacientes não tolerarem intervenções terapêuticas globais no sistema. Mesmo escolhendo somar esforços, a resposta fisiológica circulante, sistêmica do organismo na fase descompensada da cirrose, que no caso do SRA é apoiar a direção ECA/AngII ou inibir a direção ECA2/Ang1-7, é difícil detectar o limite entre melhorar ou impedir a perfusão de órgãos nobres como rim, cérebro e coração. E, ainda, tentar melhorar a perfusão dos órgãos pode representar o agravamento da hipertensão portal e a função hepática.

O propranolol, por sua vez, por inibir o SRA no início da cascata enzimática, aparentemente não favorecendo ou inibindo nenhum dos seus dois eixos principais, teoricamente é uma droga para uso em cirróticos descompensados, quando a hipertensão portal e a circulação hiperdinâmica já são importantes. É a partir de seu efeito β -bloqueador não seletivo que se reduz o fluxo sangüíneo portal e circulação hiperdinâmica. Talvez, nessa fase final, o uso do antagonista de AT1 seja tolerado se associado ao propranolol, uma vez que o primeiro reduz a resistência intra-hepática, diminuindo a hipertensão portal, e o

segundo, por seus efeitos hemodinâmicos sistêmicos (aumento da RVS), compensa os efeitos colaterais sistêmicos do primeiro, além de também, por outro mecanismo, poder reduzir a hipertensão portal. Entretanto, mais trabalhos científicos são necessários para que se comprove a possibilidade de alteração de prognóstico da cirrose hepática com o uso de propranolol e/ou antagonistas do SRA.

7 CONCLUSÕES

- O SRA circulante periférico tem níveis de ativação diferentes e predomínio de eixos diferentes nas fases clínicas da cirrose hepática. No paciente cirrótico compensado o SRA periférico ainda não aumentou seu nível de ativação, mas há um redirecionamento para o eixo vasodilatador (ECA2/Ang1-7/Mas). No paciente cirrótico descompensado o SRA periférico tem seu nível de ativação aumentado e se redireciona para o eixo vasoconstritor (ECA/AngII/AT1).
- O SRA plasmático tem predomínio de eixo diferente entre a circulação esplâncnica e periférica de pacientes cirróticos descompensados. Há nível de ativação do SRA aumentado em ambas as circulações, mas na região esplâncnica predomina o eixo vasodilatador enquanto na circulação periférica predomina o eixo vasoconstritor.
- Existe correlação importante entre a relação funcional do SRA (Ang1-7/AngII) e o perfil hemodinâmico sistêmico do paciente cirrótico descompensado. E o predomínio do eixo vasodilatador (maior relação Ang1-7/AngII) na circulação esplâncnica referentemente à circulação periférica pode indicar a participação do SRA na vasodilatação esplâncnica da cirrose hepática.
- O uso do propranolol oral pelos pacientes cirróticos descompensados inibe o SRA circulante esplâncnico e o periférico na base da cascata enzimática, determinando reduções de todos os peptídeos seguintes, mas não alterando sua relação funcional (Ang1-7/AngII) final nessas circulações.
- O uso do propranolol oral pelos pacientes cirróticos descompensados trata a circulação hiperdinâmica da cirrose provavelmente pelo seu efeito β -bloqueador, não por suas ações no SRA.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. *et al.* Angiotensin-(1-7) induces bradykinin-mediated hypotensive responses in anesthetized rats. **Hypertension**, Dallas, v.30: p.217-221, 1997.

ANDREU, V. *et al.* Total effective vascular compliance in patients with cirrhosis. Effects of propranolol. **J Hepatol**, Philadelphia, v.36: p.356-361, 2002.

ANGELI, P. *et al.* Tubular site of renal sodium retention in ascitic liver cirrhosis evaluated by lithium clearance. **Eur J Clin Invest**, Oxford, v.20: p.111-117, 1990.

ANGELI, P. *et al.* The role of nitric oxide in the pathogenesis of systemic and splanchnic vasodilation in cirrhotic rats before and after the onset of ascites. **Liver international**, [s.l.], v.25: p.429-437, 2005.

ARAKAWA, K.; URATA, H. Hypothesis regarding the pathophysiological role of alternative pathways of angiotensin II formation in atherosclerosis. **Hypertension**, Dallas, 36: 638-641, 2000.

ARNAL, J.F. *et al.* Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. **Cell Mol Life Sci**, Guildford, v.55: p.1078-1087, 1999.

ARROYO, M.; TERRA, C.; GINÉS, P. Advances in the pathogenesis and treatment of type-1 and type-2 hepatorenal syndrome. **J Hepatol**, Philadelphia, v.46: p.935-946, 2007.

ARROYO, U.; COLMENERO, J. Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhoses: pathophysiological basis of therapy and current management. **J Hepatol**, Philadelphia, v.38: p.569-589, 2003.

ARROYO, V. *et al.* Prognostic value of spontaneous hyponatremia in cirrhosis with ascites. **Am J Dig Dis**, Chicago, v.21: p.249-256, 1976.

ARROYO, V. *et al.* Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. International Ascites Club. **Hepatology**, Philadelphia, v.23: p.164-176, 1996.

ARROYO, V.; TERRA, C.; GINÉS, P. New treatments of hepatorenal syndrome. **Sem Liv Dis**, London, v.26, n.3: p.254-264, 2006.

ATUCHA, N.M. *et al.* Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis. **Curr Vasc Pharmacol**, Bristol, v.3, n.1: p.81-5, 2005.

AVERILL, D.B.; DIZ, D.I. Angiotensin peptides and the baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. **Brain Res Bull**, Phoenix, v.51, n.2: p.119-28, 1999.

AZIZI, M. *et al.* Acute angiotensin-converting enzyme inhibition increases the plasma level of the natural stem cell regulator N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline. **J Clin Invest**, Thorofare, v.97: p.839-844, 1996.

AZIZI, M. *et al.* High plasma level of N-Acetyl-Seryl-Aspartyl-Lysyl-proline: a new marker of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition. **Hypertension**, Dallas, v.30: p.1015-1019, 1997.

BADER, M. *et al.* A molecular Biology and Biochemistry of the Renin- Angiotensin System. *In: Textbook of Hypertension*, Swales JD, ed. Oxford : Blackwell Scientific Publications.

BANARES, R. *et al.* Carvedilol, a new nonselective beta-bloqueados with intrinsic anti- α_1 -adrenergic activity, has a greater portal hypotensive effect than propranolol in patients with cirrhosis. **Hepatology**, Philadelphia, v.30: p.79-83, 1999.

BARON, A.D. Vascular reactivity. **Am J Cardiol**, New York, v.84, p.25J-27J, 1999.

BATALLER, R. *et al.* Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cell. **Gastroenterol**, Bethesda, v.118: p.1149-1156, 2000.

BATALLER, R.; BRENNER, D.A. Activated hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis. **Semin Liver Dis**, United States, v.21: p.437-451, 2001.

BATALLER, R.; BRENNER, D. Liver fibrosis. **J CLI Invest**, Thorofare, v.115: p.209-218, 2005

BATENBURG, W.W. *et al.* Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilatation. Focus on bradykinin, No and endothelium-derived hyperpolarizant factor(s). **Vasc Pharmacol**, Bristol, v.42: p.109-118, 2005.

BATENBURG, W.W. *et al.* Carvedilol-induced antagonism of angiotensin II: a matter of α_1 -adrenoceptor blockade. **J Hypertens**, London, v.24, n.7: p.1355-63, jul 2006.

BATKAI, S. *et al.* Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis. **Nat Med**, New York, 2001.

BATTAGLIA, S.; ANGUS, P.; CHIN-DUSTING, J.P.F. Role the endothelium on vasoactive agents in patients with liver cirrhosis. **J Hepatol**, Philadelphia, v.21: p.1189-1193, 2006.

BERNARDI, M. *et al.* Aldosterone related blood volume expansion in cirrhoses before and during the early phase of ascites formation. **Gut**, England, v.27: p.761-766, 1983.

BERNARDI, M. *et al.* Renal sodium retention during upright posture in pré-ascitic cirrhosis. **Gastroenterol**, Bethesda, v.105, p.188-193, 1993.

- BERNARDI, M. *et al.* Q-T interval prolongation in cirrhosis: prevalence, relationship with severity, and etiology of the disease and possible pathogenetic factors. **Hepatology**, Philadelphia, v.27: p.28-34, 1998.
- BLENDIS, L.; WONG, F. The hyperdynamic circulation in cirrhosis: an overview. **Pharmacol Therap**, Alexandria, v.89: p.221-231, 2001.
- BLUMENFELD, J.D. *et al.* B-Adrenergic Receptor blockade as a Therapeutic Approach for Suppressing the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Normotensive and Hypertensive Subjects. **Am J Hypertens**, New York, v.12: p.451-459, 1999.
- BOEHM, M.; NABEL, E.G. Angiotensin-Converting Enzyme 2 – A new cardiac regulator. **N Engl J Med**, Seattle, v.347, n.22, november 28, 2002.
- BOSCH, J.; ABRALDES, J.G.; GROSZMANN, R. Current management of portal hypertension. **J Hepatol**, Philadelphia, v.38: p.54-S68, 2003.
- BOTELHO, L.M.O. *et al.* Plasma angiotensin-(1-7) immunoreactivity is increased by salt load, water deprivation and hemorrhage. **Peptides**, Chicago, v.15,n.4,p.723-729,1994.
- BRASZKO, J.J. *et al.* The 3-7 fragment of angiotensin II is probably responsible for its psychoactive properties. **Brain Res**, Phoenix, v.554: p.49-54, 1991.
- BROSNIHAN, B.K. *et al.* Biotransformation of angiotensins in the central nervous system. **Ther Res**, United States, v.9: p.184-195, 1988.
- CAHILL, P.A.; REDMOND, E.M.; STZMANN, J.V. Endothelial dysfunction in cirrhosis and portal hypertension. **Pharmacol Therap**, Alexandria, v.89: p.273-293, 2001.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. *et al.* Cardiovascular effects of angiotensin-(1-7) microinjected into the dorsal medulla of rats. **Am J Physiol**, Galveston, v.257: p.11324-11329, 1989.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; DIZ, D.I.; FERRARIO, C.M. Actions of angiotensin peptides after partial denervation of the solitary tract nucleus. **Hypertension**, Dallas, v.15 (Suppl I): p.134-139, 1990.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. *et al.* Differential baroreceptor reflex modulation by centrally infused angiotensin peptides. **Am J Physiol**, Galveston, v.263, n.1: p.R89-94, 1992.
- CAMPBELL, D.J. *et al.* β -blockers, angiotensin II, and ACE inhibitors in patients with heart failure. **Lancet**, London, v.358: p.1609-1610, 2001.
- CAREY, R.M.; SIRAGY, H.M. Newly Recognized components of the Renin Angiotensin System: Potential roles in cardiovascular and renal regulation. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v.24, n.3: p.261-271, 2003.

CATANZARO, D.F. Physiological relevance of renin-angiotensin binding and uptake. **Hypertens Res**, Los Angeles, v.28: p.97-105, 2005.

CHAPPELL, M.C. *et al.* Metabolism of angiotensin-(1-7) by angiotensin-converting enzyme. **Hypertension**, Dallas, v.31: p.362-367, 1998.

CHU, C.J. *et al.* Hyperdynamic circulation of cirrhotic rats with ascites: role of endotoxin, tumours necrosis factor-alpha and nitric-oxide. **Clin Sci**, Oxford, v. 93: p.219-25, 1997.

CIGOLA, E. *et al.* Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro. **Exp Cell Res**, Berlin, v.231: p.363-371, 1997.

CINGOLANI, O.H. *et al.* Reduction of cardiac fibrosis decreases systolic performance without affecting diastolic function in hypertensive rats. **Hypertension**, Dallas, v.43: p.1067-1073, 2004.

CLARIA, J. *et al.* Increased nitric oxide-dependent vasorelaxation in aortic rings of cirrhotic rats with ascites. **Hepatology**, Philadelphia, v.20: p.1621-1651, 1994.

CRACKOWER, M.A. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. **Nature**, London, v.417: p.822-828, 2002.

DAY, P.C. *et al.* Q-T prolongation and sudden cardiac death in patients with alcoholic liver disease. **Lancet**, London, v.341: p.1423-1428, 1993.

DEBERNARDI-VENON, W. *et al.* AT1 receptor antagonist Candesartan in selected cirrhotic patients: Effect on portal pressure and liver fibrosis markers. **J Hepatol**, Philadelphia, doi:10.1016/j.jhep.2007.01.017, 2007.

DECHEND, R. *et al.* Activating auto-antibodies against the AT1 receptor in preeclampsia. **Autoimmune Rev**, Netherlands, v.4: p.61-65, 2005.

DEDDISH, P.A. *et al.* N-domain – specific substrate and C-domain inhibitors of angiotensin – converting enzyme. Angiotensin-(1-7) and Keto – ACE. **Hypertension**, Dallas, v.31; p.912-917, 1998.

DE GASPARO, M. *et al.* Union of pharmacology XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Rev**, Marseille, v.52: p.415-472, 2000.

DE MELLO, W.C.; DAUSER, A.H. Angiotensin II and the heart. **Hypertension**, Dallas, v.35: p.1183-1188, 2000.

DE MOTA, N. *et al.* Apelin a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. **Proc Nath Acad Sci**, Washington, USA, v.101: p.10464-10469, 2004.

DEUTSCH, D.G. *et al.* Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. **J Clin Invest**, Thorofare, v.100: p.1538-1546, 1997.

DILLON, J.F. *et al.* The correction of autonomic dysfunction in cirrhosis by captopril. **J Hepatol**, Philadelphia, v.26: p.331-335, 1997.

DIZ, D.I.; PIRRO, N.A.T. Differential actions of angiotensin II and angiotensin-(1-7) on transmitter release. **Hypertension**, Dallas, (suppl. II); v.II, p.41-II-48, 1992.

DONOGHUE, M. *et al.* A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. **Circ Res**, Baltimore, v.87: p.E1-E9, 2000.

DZAU, V.J.; PRATT, R.E. **Renin angiotensin system**: biology, physiology, and pharmacology. The Heart and Cardiovascular System. New York: Raven Press.1631-1662, 1986.

DZAU, V.J. *et al.* A comparative study of the distributions of renin and angiotensinogen messenger ribonucleic acids in rat and mouse tissues. **Endocrinology**, Iowa, v.120: p.2334-2338, 1987.

DZAU, V.J.; RE, R. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift? **Circulation**, Dallas, v.89: p.493-498, 1994.

DZAU, V.J. *et al.* The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestation in mechanistic and endpoint data. **Am J Cardiol**, New York, v.88: p.11-201, 2001.

FALKENHAHN, M.F.F. *et al.* Cellular distribution of angiotensin-converting enzyme after myocardial infarction. **Hypertension**, Dallas, v.25: p.219-226, 1995.

FERNANDEZ, M. *et al.* Acute and chronic cyclooxygenase blockade in portal-hypertensive rats: influence in nitric oxide biosynthesis. **Gastroenterol**, v.110: p.1529-1535, 1996.

FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. *et al.* Atrial natriuretic factor in cirrhosis: relationship to renal function and hemodynamic changes. **J Hepatol**, Philadelphia, v.21: p.211-216, 1994.

FERRARIO, C.M. *et al.* A hypothesis regarding the function of angiotensin peptides in the brain. **Clin Exp Hypertens**, Dallas, v.10: p.107-121, 1988.

FERRARIO, C.M. *et al.* Pathways of angiotensin formation and function in the brain. **Hypertension**, Dallas, v.15 (suppl.I): p.113-119, 1990.

FERRARIO, C.M. *et al.* Counterregulatory actions of angiotensin-(1-7). **Hypertension**, Dallas, v.30[part 2]: p.535-541, 1997.

FERRARIO, C.M. *et al.* Novel angiotensin peptides regulate blood pressure, endothelial function, and natriuresis. **J Am Soc Nephrol**, Cakut, v.9: p.1716-1722, 1998a.

FERRARIO, C.M. *et al.* Characterization of angiotensin-(1-7) in the uterine of normal and essential hypertensive subjects. **Am J Hypertens**, New York, v.11: p.137-146, 1998b.

FERRARIO, C.M.; CHAPPELL, M.C. Novel cingiotensin peptides. **Cell Mol Life Sci**, Guildford, v.61: p.2720-2727, 2004.

FERRARIO, C.M.; TRASK, A.J.; JESSUP, J.A. Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.289: p.H2281-H2290, 2005.

FERREIRA, A.J.; SANTOS, R.A.S. Cardiovascular action of angiotensin-(1-7). **Br J Med Biol Res**, São Paulo, v.38: p.499-507, 2005.

GAIANI, S. *et al.* Prevalence of spontaneous hepatofugal portal flow in liver cirrhosis. **Gastroenterol**, Bethesda, v.100, p.160-167, 1991.

GALLINAT, S. *et al.* The angiotensin II type 2 receptor: an enigma with multiple variations. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Bethesda, v.278: p.E 357-E374, 2000.

GARCIA-ESTAN, J.; ORTIZ, M.C.; LEE, S.S. Nitric oxide and renal and cardiac dysfunction in cirrhosis. **Clin Sci**, Oxford, v.102: p.213-222, 2002.

GARG, R.K. Anesthetic considerations in patients with hepatic failure. **Int Anesthesiol Clin**, United States, v.43, n.4: p.45-63, 2005.

GEERTS, A. History, heterogeneity, developmental biology and functions of quiescent hepatic stellate cells. **Semin Liver Dis**, United States, v.21: p.311-335, 2001.

GIBBONS, G.H.; DZAU, V.J. The emerging concept of vascular remodeling. **N Engl J Med**, Seattle, v.330, n.20: p.1431-1438, 1994.

GINÈS, P. *et al.* Pathogenesis of ascite in cirrhosis. **Semin Liver Dis**, United States, v.17: p.175-189, 1997.

GINÈS, P. *et al.* Management of cirrhosis and ascites. **N Engl J Med**, Seattle, v.350: p.1646-54, 2004.

GIRGRAH, N. *et al.* Haemodynamic, renal sodium handling, and neurohormonal effects os acute administration of low dose losartan, an angiotensin II receptor antagonist, in preascitic cirrhosis. **Gut**, England, v.46: p.114-120, 2000.

GOETTE, A.; LENDECKEL, U. Nonchannel drug targets in atual fibrillation. **Pharmacol Ther**, Alexandria, v.102: p.17-36, 2004.

GOULTER, A.B. *et al.* ACE 2 gene expression is up-regulated in the human failing heart T. **BMC Med**, London, v.2: p.19, 2004.

- GREENE, L.J. *et al.* Brain endo-oligopeptidase B: A post-proline cleaving enzyme that inactivates angiotensin I and II. **Hypertension**, Dallas, v.4: p.178-184, 1982.
- GROSZMANN, R.J. *et al.* Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis. **N Engl J Med**, Seattle, v.353, n.21: p.2254-2261, 2005.
- GUEVARA, M. *et al.* Increased cerebrovascular resistance in cirrhotic patients with ascites. **Hepatology**, Philadelphia, v.28, p.39-44, 1998.
- HALL, J.E. Control of sodium excretion by angiotensin II : intrarenal mechanisms and blood pressure regulation. **Am J Physiol**, Galveston, v.250: p.R960-R972, 1986.
- HALL, J.E. Historical perspective of the renin-angiotensin system. **Mol Biotechnol**, Frankfurt, v.24: p.27-39, 2003.
- HAMMING, I. *et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **J Pathol**, Hagerstow, v.203: p.631-637, 2004.
- HANJE, A.J.; PATEL, T. Preoperative evaluation of patients with liver disease. **Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.4: p.266-276, 2007.
- HARBERL, R.L.; DECKER, P.J.; EINHAUPL, K.M. Angiotensin degradation products mediate endothelium dependent dilation of rabbit brain arterioles. **Circ Res**, Baltimore, v.68: p.1621-1627, 1991.
- HEALEY, J.S.; MORILLO, C.A.; CONNOLLY, S.J. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in atrial fibrillation and cardiac remodeling. **Curr Opin Cardiol**, London, v.20: p.31-37, 2005.
- HELLER, J. *et al.* Abnormal regulation of aortic NOS2 and NOS3 activity and expression from portal vein-stenosed rats after hipopolysaccharide administration. **Hepatology**, Philadelphia, v.30: p.698-704, 1999.
- HELMY, A. *et al.* Role of angiotensin II in regulation of basal and sympathetically stimulated vascular tone in esrly and advanced cirrhosis. **Gastroenterol**, Bethesda, v.118: p.565-72, 2000.
- HERATH, C.B. *et al.* Upregulation of hepatic angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and angiotensin-(1-7) leves in experimental biliary fibrosis. **J Hepatol**, England, doi:10.1016/j.jhep.2007.03.008, 2007.
- HUANG, L. *et al.* Novel peptide inhibitors of angiotensin-converting 2. **J Biol Chem**, Baltimore, v.278: p.15532-15540, 2003.
- IMAI, Y. *et al.* Angiotensin-converting enzyme2 protects from severe acute lung failure. **Nature**, London, v.436: p.112- 116, 2005.

- ISHIDA, J. *et al.* Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure *in vivo*. **J Biol Chem**, Baltimore, v.279: p.26274-26279, 2004.
- IWAKIRI, Y.; GROSZMANN, R.J. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. **J Hepatol**, England, v.46: p.927-934, 2007.
- IWAO, T. *et al.* Splanchnic and extrasplanchnic arterial hemodynamics in patients with cirrhosis. **J Hepatol**, England, v.27: p.817-823, 1997.
- JACKSON, T.R. *et al.* The mas oncogene encodes an angiotensin receptor. **Nature**, London, v.335: p.437-440, 1988.
- KALAMBOKIS, G. *et al.* The effects of treatment with octreotide, diuretics, or both on portal hemodynamics in nonazotemic cirrhotic patients with ascites. **J Clin Gastroenterol**, United States, v.40, n.4: p.342-346, april, 2006.
- KEIDAR, S. *et al.* Mineralocorticoid Receptor Blocker Increases Angiotensin-Converting Enzyme 2 Activity in Congestive Heart Failure Patients. **Circ Res**, Baltimore, v.97: p.946-953, 2005.
- KELLER, H. *et al.* 1988. Ventricular function in cirrhotics and portosystemic shunt: a two-dimensional echocardiographic study. **Hepatology**, Philadelphia, v.8, p.658-662.
- KHOSLA, M.C.; SMEBY, R.R.; BUMPUS, F.M. Structure-activity relationship in angiotensin II analogues. *In: Handbook of Experimental Pharmacology Angiotensin*. Page IH and Bumpus FM, ed. Berlin; Springer-Verlag, v.37: p.126-161, 1974.
- KOHLSTEDT, K. *et al.* Angiotensin-converting enzyme is involved in outside-in signaling in endothelial cells. **Circ Res**, Baltimore, v.94: p.60-67, 2004.
- KONO, T. *et al.* Biological activities of angiotensin II – (1-6) hexapeptide and angiotensin II-(1-70) heptapeptide in man. **Life Sciences**, Oxford, v.38: p.1515, 1986.
- KONTOS, H.A. *et al.* General and regional alterations in cirrhotics of the liver. **Am J Med**, Newton, v.37: p.526-535, 1964.
- KOSTENIS, E. *et al.* G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. **Circulation**, Dallas, v.111: p.1806-1813, 2005.
- KUCHAREWICZ, I. *et al.* Angiotensin-(1-7): an active member of the renin-angiotensin system. **J Physiol Pharmacol**, Washington, v.53: p.533-540, 2002.

- LAKE-BRUSE, K.D.; SIGMUND, C.D. Transgenic and knockout mice to study the renin-angiotensin system and other interacting vasoactive pathways. **Curr Hypertens Rep**, Berlin, v.2: p.211-216, 2000.
- LARSEN, F.S.; OLSEN, K.S.; EJLERSEN, H. Cerebral blood flow and liver function in patients with encephalopathy due to acute and chronic diseases. **Hepatology**, Philadelphia, v.22: p.730-736, 1995.
- LEBREC, D.; MOREAU, R. Pathophysiology of portal hypertension. **Hepatogastroenterol**, Dallas, v.46(suppl.2): p.1426-1428, 1999.
- LI, P. *et al.* Angiotensin-(1-7) augments bradikinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide. **Hypertension**, Dallas, v.29 [part 2]: p.394-400, 1997.
- LI, W. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SAR S coronavirus. **Nature**, London, v.426: p.450-454, 2003.
- LIU, H.; GASKAR, A.S.; LEE, S.S. Cardiac and vascular changes in cirrhosis: pathogenic mechanisms. **World J Gastroenterol**, Osaka, v.12, n.6: p.837-842, 2006.
- LIU, H.; LEE, S.S. Cardiopulmonary dysfunction in cirrhosis. **J Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.14: p.600-608, 1999.
- MA, Z.; LEE, S.S. Cirrhotic cardiomyopathy: getting to the heart of the matter. **Hepatology**, Philadelphia, v.24: p.451-459, 1996.
- MA, Z.; MIYAMOTO, A.; LEE, S.S. Role of altered beta-adrenoceptor signal transduction in the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in rats. **Gastroenterol**, Bethesda, v.110: p.1191-1198, 1996.
- MALAN, T.P. *et al.* Cardiovascular effects of sevoflurane compared with those of isoflurane in volunteers. **Anesthesiology**, Iowa, v.85, n.5: p.918-928, 1995.
- MALHOTRA, R. *et al.* Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin-system in cardiac myocytes *in vitro*. **Circ Res**, Baltimore, v.85: p.137-146, 1999.
- MARNETT, L. *et al.* Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. **J Biol Chem**, Baltimore, v.274: p.22903-22906, 1999.
- MICHEL, C.C.; CURRY, F.E. Microvascular permeability. **Physiol Rev**, Washington, v.79: p.703-761, 1999.
- MOLLER, S.; BENDTSEN, F.; HENRIKSEN, J.H. Effect of beta-adrenergic blockade on elevated compliance and low vascular resistance in cirrhosis. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.6: p.653-657, 2001.

MOLLER, S.; HENRIKSEN, J.H. Cirrhotic cardiomyopathy: a pathophysiological review of circulatory dysfunction in liver disease. **Heart**, Saint Louis, v.87, n.1: p.9-15, 2002.

MONCADA, S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. **J R Soc Med**, London, v.92: p.164-169, 1999.

NEVES, L.A.A. *et al.* Metabolism of angiotnsin I in isolated rat hearts:effect of angiotensin converting inhibitors. **Biochem Pharmacol**, Bristol, v.50, n.9: p.1451-1459, 1995.

NEWBY, D.E.; HAYES, P.C. Hyperdynamic circulation in liver cirrhosis: not peripheral vasodilatation but "splanchnic steal". **Q J Med**, England, v.95: p.827-830, 2002.

NGUYEN, G. *et al.* Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. **J Clin Invest**, Thorofare, v.109: p.1417-1427, 2002.

NGUYEN, G.; BURCKLE, C.A.; SRAER, J.D. Renin/prorenin receptor biochemistry and functional significance. **Curr Hypertens Rep**, Berlin, v.6: p.129-132, 2004.

NIEDERBERGER, M. *et al.* Normalization of nitric oxide productions corrects arterial vasodilation and hyperdynamic circulation in cirrhotic rats. **Gastroenterol**, Bethesda, v.109: p.1624-1630, 1995.

NOUET, S.; NAHMIAS, C. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. **Trends Endocrinol Metab**, Charlottesville, v.11: p.1-6, 2000.

OHTA, M. *et al.* Increased prostacyclin content in gastric mucosa of cirrhotic patient with portal hypertensive gastropathy. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, Scotland, v.53: p.41-45, 1995.

PAGE, I.H. **Hypertension mechanisms**. Orlando/New York, Grune and Stratton, Inc, 362, 1987.

PAGLIARO, P.; PENNA, C. Rethinking the Rennin-Angiotensin System and its role in cardiovascular regulation. **Cardiovasc Drugs Ther**, United States, v.19: p.77-87, 2005.

PAIZIS, G. *et al.* Up-regulation of components of the renin-angiotensin system in the bile duct-ligated rat liver. **Gastroenterol**, Bethesda, v.123: p.1667-1676, 2002.

PAIZIS, G. *et al.* Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2. **Gut**, Engalnd, v.54: p.1790-1796, 2005.

PAUL, M.; MEHR, A.P.; KREUTZ, R. Physiology of local Renin-angiotensin systems. **Physiol Rev**, Washington, v.86: p.747-803, 2006.

PAULA, R.D. *et al.* Angiotensin-(1-7) potentiates the hypotensive effect of bradykinin in conscious rats. **Hypertension**, Dallas, v.26: v.1154-1159, 1995.

PEREIRA, R.M. *et al.* The renin-angiotensin system in a rat model of hepatic fibrosis: Evidence for a protective role of Angiotensin-(1-7). **J Hepatol**, England, doi:10.1016/j.jhep.2006.10.018, 2007.

PETERS, J. *et al.* Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. **Circ Res**, Baltimore, v.90: p.1135-1141, 2002.

PINTO, Y.M. *et al.* Cardiovascular endorgan damage in Ren-2 transgenic rat compared to spontaneously hypertensive rats. **J Mol Med**, Berlin, v.75: p.371-375, 1997.

PINTO, Y.M. *et al.* A40-fold increase in cardiac angiotensin converting enzyme activity fails to increase local angiotensin II concentrations. **Circulation**, Dallas, v.98: p.1- 392, 1998.

PISCAGLIA, F. *et al.* Systemic and splanchnic hemodynamic changes after liver transplantation for cirrhosis: A long-term prospective study. **Hepatology**, Philadelphia, v.30: p.58-64, 1999.

POLLMAN, M.J. *et al.* Vasoactive substances regulate vascular smooth muscles cells apoptosis. Countervailing influences of Nitric Oxide and Angiotensin II. **Circ Res**, Baltimore, v.79: p.748-756, 1996.

RASTALDO, R. *et al.* Cytochrome P-450 metabolite of arachidonic acid mediates bradykinin-induced negative inotropic effect. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.280: p.H2823-2832, 2001.

RIEGER, K.J. *et al.* Involvement of human plasma angiotensin I converting enzyme in the degradation of the haemoregulatory peptide N-acetyl seryl aspartyl lysyl proline. **Biochem J**, London, v.270: p.3656-3661, 1993.

ROKS, A.J.M. *et al.* Angiotensin-(1-7) is a modulator of the human rennin-angiotensin system. **Hypertension**, Dallas, v.34: p.296-301, 1999.

ROSSI, G.P. *et al.* Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. **Cardiovasc Res**, London, v.43: p.300-307, 1999.

SAIJONMA, O. NYMAN, T.; FYHRQUIST, F. Carvedilol inhibits basal and stimulated ACE production in human endothelial cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, United States, v.43, n.5: p.616-21, may 2004.

SALÓ, J. *et al.* Effect of upright posture and physical exercise on endogenous neurohormonal systems in cirrhotic patients with sodium retention and normal supine plasma renin, aldosterone, and norepinephrine levels. **Hepatology**, Philadelphia, v.22: p.479-487, 1995.

SAMONAKIS, D.N. *et al.* Management of portal hypertension. **Postgrad Med J**, Minneapolis, v.80: p.634-641, 2004.

SANTOS, R.A.S. *et al.* Characterization of new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): evidence that the actions of ngiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptores. **Brain Research Bulletin**, EUA, v.35, n.4: p.293-298, 1994.

SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7). **Br J Med Res**, São Paulo, v.27: p.1033-1047, 1994.

SANTOS, R.A.S. *et al.* Evidence for a physiological role of angiotensin-(1-7) in the control of the hydroelectrolyte balance. **Hypertension**, Dallas, v.27: p.875-884, 1996.

SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; ANDRADE, S.P. Angiotensin-(1-7): an update. **Regul Pept**, Amsterdam, v.91: p.45-62, 2000.

SANTOS, R.A.S. *et al.* Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proc Natl Acad Sci**, Washington, USA v.100: p.8258-8263, 2003.

SANTOS, R.A.S.; FERREIRA, A.J. Angiotensin-(1-7) and the rennin-angiotensin system. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, Philadelphia, v.16: p.122-128, 2007.

SARIS, J.J. *et al.* Cardiomyocytes bind and activate native human prorenin: role of soluble mannose 6-phosphate receptors. **Hypertension**, Dallas, v.37: p.710-715, 2001.

SARIS, J.J. *et al.* Prorenin-induced myocyte proliferation: no role for intracellular angiotensin II. **Hypertension**, Dallas, v.39: p.573-577, 2002.

SCHIAVONE, M.T. *et al.* Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophysial system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. **Proc Natl Acad Sci**, Washington, p.4095-4098, 1981.

SCHIFFRIN, E.L. Vascular endothelin in hypertension. **Vasc Pharmacol**, Bristol, v.43: p.19-29, 2005.

SCHMIEDER, R.E.; HILGERS, K.P.; SCHMIDT, B.M.W. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. **Lancet**, London, v.369: p.1208-1219, 2007.

SCHRIE, R.W. Renin-angiotensin in Preascitic Cirrhosis: evidence for primary peripheral arterial vasodilatation. **Gastroenterol**, Bethesda, v.115, n.2: p.489-491, August 1998.

SCHULMAN, I.H.; ZHOU, M.S.; RAY, L. Nitric oxide, angiotensin II, and reactive oxygen species in hypertension and atherogenesis. **Curr Hypertens Rep**, Berlin, v7: p.61-67, 2005.

SENBONMATSU, T. *et al.* Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload. **J Clin Invest**, Thorofare, v.106: p.R25-R29, 2000.

SIMÕES E SILVA, A.C. *et al.* the renin angiotensin system in childhood hypertension: Selective increase of Angiotensin-(1-7) in essential hypertension. **J Pediatr**, Saint Louis, v.145, n.1: p.93-99, 2004.

SOOKOAIN, S.; FERNANDEZ, M.A.; CASTANO, G. Effects of six months losartan administration on liver fibrosis in chronic hepatitis C patients: a pilot study. **World J Gastroenterol**, Osaka, v.11: p.7560-7563, 2005.

STOLL, M. *et al.* The angiotensin AT₂- receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells. **J Clin Invest**, Thorofare, v.95: p.651-657, 1995.

STOLTZ, J.F. *et al.* Hemorheology and vascular endothelial cells. **J Mal Vasc, Saint Louis**, v.24: p.99-109, 1999.

SUN, Y. *et al.* Fibrous tissue and angiotensin II. **J Mol Cell Cardiol**, France, v.29: p.2001-2021, 1997.

SUZUKI, F. *et al.* Human prorenin has "gate and handle" regions for its non-proteolytic activation. **J Biol Chem**, Baltimore, v.278: p.22217-22222, 2003.

SWANSON, G.N. *et al.* Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3-8) a putative angiotensin IV receptor. **Regul Pept**, Amsterdam, v.40: p.409-419, 1992.

TALEMOTO, K. *et al.* The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. **Regul Pept**, Amsterdam, v.99: p.87-92, 2001.

TIMMERMANS, P.B.M.W.M. *et al.* Angiotensin II receptor antagonists: from discovery to hypertensive drugs. **Hypertension**, Dallas, v.18 (Sup I III): p.III-136 III-142, 1991.

TIMMERMANS, P.B.M.W.M. *et al.* Angiotensin II receptors and Angiotensin II receptors antagonists. **Pharmacol Rev**, Marseille, v.45, n.2: p.205-251, 1993.

TIPNIS, S.R. *et al.* A human homolog of angiotensin-converting enzyme. **J Biol Chem**, Baltimore, v.43: p.33238-33243, 2000.

TREVISANI, F. *et al.* Autonomic dysfunction and hyperdynamic circulation in cirrhosis with ascite. **Hepatology**, Philadelphia, v.30: p.1387-1392, 1999.

TRIPATHI, D. *et al.* Chronic administration of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, is not effective in reducing portal pressure in patients with preascitic cirrhosis. **Am J Gastroenterol**, Richmond, v.99: p.390-394, 2004.

UNGER, T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. **J Hypertens**, London, v.17: p.1775-1786, 1999.

URATA, H. *et al.* Angiotensin II-forming pathways in normal and failing human heart. **Circ Res**, Baltimore, v.66: p.883-890, 1990.

URATA, H.; NISHIMURA, H.; GANTEN, D. Chymase-dependent angiotensin II forming systems in humans. **Am J Hypertens**, New York, v.9: p.277-284, 1996.

VAN De CASTEELE, M. *et al.* In vivo gene transfer of endothelial nitric oxide syntase decreases portal pressure in anaesthetised carbon tetrachloride cirrhotic rats. **GUT**, England, v.51: p.440-445, 2002.

VAN DER MEER, P. *et al.* Levels of hematopoiesis inhibitor N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline partially explain the occurrence of anemia in heart failure. **Circulation**, Dallas, v.112: p.1743-1747, 2005.

VAN DER WOUDE, E.A. *et al.* The role of angiotensin (1-7) in renal vasculature of the rat. **J Hypertens**, London, v.24: p.1971-1978, 2006.

VAN KATS, J.P. *et al.* Angiotensin production by the heart: a quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions. **Circulation**, Dallas, v.98: p.73-81, 1998.

VARGA, K. *et al.* Platelet - and macrophage - derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. **FASEBJ**, Bethesda, v.12: p.1035-1044, 1998.

VAUGHAN, R.B.; CHIN-DUSTING, J.P. Current pharmacotherapy in the management of cirrhosis: focus on the hyperdynamic circulation. **Exp Opin Pharmacother**, Berlin, v.4, n.5: p.625-637, may 2003.

VICKERS, C. *et al.* Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. **J Biol Chem**, Baltimore, v.277: p.14838-14843, 2002.

VLACHOGIANNAKOS, J. *et al.* K.Angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II antagonists as therapy in chronic liver disease. **Gut**, England, v.49: p.303-308, 2001.

VON BOHLEN, H.O. *et al.* Interaction between Mas and the angiotensin AT1 receptor in the amygdala. **J Neurophysiol**, Amsterdam, v.83: p.2012-2183, 2000.

VON LUTEROTTI, N. *et al.* Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues. A review of experimental evidence. **Circulation**, Dallas, v.89: p.493-498, 1994.

WANG, D. *et al.* N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline stimulates angiogenesis in vitro and *in vivo*. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.287: p.H2099-H2105, 2004.

WEISS, D.; SORESCU, D.; TAYLOR, W.R. Angiotensin II and atherosclerosis. **Am J Cardiol**, New York, v.87(suppl): p.25C-32C, 2001.

WELCHES, W.R. *et al.* Prolyl endopeptidase participates in the processing of brain angiotensin. **J Hypertens**, London, v.9: p.631-638, 1991.

WIDDOP, R.E. *et al.* Angiotensin AT₂ receptors: cardiovascular hope or hype? **Br J Pharmacol**, London, v.140: p.809-824, 2003.

WIEST, R. *et al.* NO overproduction by eNOS precedes hyperdynamic splanchnic circulation in portal hypertensive rats. **Am J Physiol**, Galveston, v.276: p.G1043-1051, 1999.

WILLIAMS, B. Mechanical influences on vascular smooth muscle cell function. **J Hypertens**, London, v.16: p.1921-1929, 1998.

WONG, F. *et al.* Glomerular hyperfiltration in patients with well compensated alcoholic cirrhosis. **Gastroenterol**, Bethesda, v.104: p.884-889, 1993.

WONG, F.; SHIDERMAN, K.; BLENDIS, L. The Renal Sympathetic and Renin-angiotensin Response to Lower Body Negative Pressure in Well-Compensated Cirrhosis. **Gastroenterol**, Bethesda, v.115: p.397-405, 1998.

XU, L. *et al.* Neuronal nitric oxide synthase and systemic vasodilatation in rats with cirrhosis. **Am J Physiol Renal Physiol**, Bethesda, v.279: p.F1110-F1115, 2000.

ZAVECS, J.H. *et al.* Cardiac excitation-contraction coupling in the portal hypertensive rats. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, Galveston, v.279: p.G28-39, 2000.

ZHANG *et al.* Expression of local renin and angiotensinogen mRNA in cirrhotic portal hypertensive patient. **World J Gastroenterol**, Osaka, v.7, n.9: p.1584-1588, 15 July 2003.

ANEXO E APÊNDICE



Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

Parecer nº. ETIC 181/04

Interessada: Profa. Dra. Walkíria Wingester Vilas Boas
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 15 de dezembro de 2004, após análise as solicitações à diligência, o projeto de pesquisa intitulado « **Sistema Renina-Angiotensina na Cirrose Hepática** » bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

Apêndice A – Termo de consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de pesquisa:

“Sistema Renina-Angiotensina(SRA) em pacientes com cirrose hepática”

Prezado Senhor,

O Departamento de Cirurgia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais está realizando um estudo do Sistema Renina-Angiotensina (um dos sistemas que controlam as pressões sanguíneas do organismo) nos pacientes com cirrose do fígado. Para tal será coletado sangue para estudos genéticos e dosagens relacionadas ao Sistema Renina-Angiotensina desses pacientes.

Nos pacientes com cirrose do fígado geralmente ocorre um aumento da pressão sanguínea da veia Porta (uma das principais fontes de sangue para o fígado) e isto tem como consequência a formação de varizes no esôfago (que podem se romper e causar vômitos de sangue) e ascite (“barriga d’água”). Já fora da região do fígado as pressões sanguíneas tendem a ser mais baixas que o normal. O Sistema Renina-Angiotensina é um conjunto de várias substâncias com diversas ações, principalmente sobre os vasos sanguíneos, controlando suas pressões. Este estudo pretende verificar se as alterações de pressões sanguíneas observadas nos estágios avançados da cirrose do fígado poderiam estar associadas a alterações de componentes do Sistema Renina-Angiotensina.

Se você quiser participar deste estudo, poderá fazê-lo doando uma amostra de sangue para realizarmos os exames laboratoriais. O único desconforto será o procedimento de coleta do sangue.

Sua participação é totalmente voluntária e caso você não queira participar não haverá qualquer prejuízo para o seu tratamento no Hospital das Clínicas. Toda informação obtida nessa pesquisa é considerada confidencial (sua identidade não será revelada, a amostra de sangue doada receberá um número e não um nome) e os resultados serão publicados após a conclusão do estudo pelos médicos responsáveis: Dra. Walkíria Wingester Vilas Boas, Dr. Marcelo Dias Sanches, Dr. Antônio Ribeiro de Oliveira Jr e Dr. Robson Augusto dos Santos.

Qualquer outro esclarecimento sobre o estudo poderá ser obtido com a Dra. Walkíria Wingester Vilas Boas nos telefones (031) 32275555 ou (031) 99840697.

Desde já, agradecemos a sua colaboração.

Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP: (031)3499-4027

Termo de consentimento

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, autorizo a coleta de sangue para ser usado na pesquisa acima.

Nome completo

Data

Assinatura

