

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 02/03/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” - UNESP  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

GABRIELA PALMA ZOCHIO TOZZATO

**EFEITOS DA ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE (AIA) SOBRE AS  
RESPOSTAS DA AORTA À ANGIOTENSINA II EM RATOS SUBMETIDOS OU  
NÃO À CASTRAÇÃO CIRÚRGICA**

BOTUCATU – SP  
2018

GABRIELA PALMA ZOCHIO TOZZATO

**EFEITOS DA ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE (AIA) SOBRE AS  
RESPOSTAS DA AORTA À ANGIOTENSINA II EM RATOS SUBMETIDOS OU  
NÃO À CASTRAÇÃO CIRÚRGICA**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita  
Filho”, Campus de Botucatu, como requisito para  
obtenção do título de Doutora em Farmacologia e  
Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Bruno Chies  
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Renato de Assis

BOTUCATU – SP  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Tozzato, Gabriela Palma Zochio.

Efeitos da artrite induzida por adjuvante (AIA) sobre o balanço redox sistêmico, a função endotelial e as respostas da aorta de rato à Angiotensina II em ratos submetidos ou não à castração cirúrgica / Gabriela Palma Zochio Tozzato. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Agnaldo Bruno Chies  
Coorientador: Marcos Renato de Assis  
Capes: 21001006

1. Angiotensina II. 2. Artrite experimental. 3. Endotélio.  
4. Eicosanoides. 5. Testosterona.

Palavras-chave: Angiotensina II; Artrite experimental; EDHF; Eicosanoides; Testosterona.

Gabriela Palma Zochio Tozzato

Efeitos da artrite induzida por adjuvante (AIA) sobre as respostas da aorta à angiotensina II em ratos submetidos ou não à castração cirúrgica

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, como requisito para obtenção do título de Doutora em Farmacologia e Biotecnologia

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Agnaldo Bruno Chies - Presidente

---

Prof. Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior

---

Prof. Dr. Erick José Ramo da Silva

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristina Antoniali Silva

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Liliam Fernandes

Data da aprovação: 02/03/2018

Dedico este trabalho aos meus pais, **Márcia** e **Gilberto**, minha irmã **Cristine**, meu marido **Thiago**, meu anjo de quatro patas **Matilda** e à minha “segunda mãe” **Silmara**.

## AGRADECIMENTOS

À **CAPES**, pelo auxílio financeiro em forma de bolsa de Doutorado para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu Orientador, **Prof. Dr. Agnaldo Bruno Chies**, pelo apoio, confiança e criteriosa orientação demonstrados ao longo destes seis anos de convivência (Mestrado e Doutorado) que foram determinantes na minha formação científica.

Ao meu Coorientador, **Prof. Dr. Marcos Renato de Assis**, pela visão e brilhantismo depositados. Obrigada por acreditar em nossa proposta, seus questionamentos e reflexões foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Angélica Spadella**, que sempre esteve disposta a me ajudar.

Aos funcionários dos Departamentos de Farmacologia e Embriologia da FAMEMA, **Priscilla, Alisson e Rosa**, pelo auxílio na execução dos experimentos e técnicas, na manutenção dos animais, assim como, pela amizade e por tornarem meus dias sempre mais felizes.

Às funcionárias do Núcleo de Atenção e Saúde em Cadeiras Básicas da FAMEMA, **Célia e D. Cida** pelo auxílio em minhas tarefas diárias e, acima de tudo, pela amizade.

Aos **Professores da Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências**, pelas disciplinas ministradas, que tanto contribuíram para o desenvolvimento do meu trabalho como para a minha formação nesta instituição.

Aos **funcionários da Secretaria de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu, Davi e Garlane**, pela disponibilidade, prontidão e compreensão para resolução de questões burocráticas ao longo desses quatro anos.

Aos grandes amigos de Botucatu: **José Sérgio (Zé), Rodrigo, Mayara, Jéssica, Katiussia e Regina**, que sempre me ajudaram em tudo que precisei, me oferecendo desde moradia até o ombro amigo. Pessoas maravilhosas que tive a honra de conhecer e conviver,

obrigada por tornarem as minhas idas à Botucatu muito mais divertidas.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ciomar Aparecida Bersani Amado**, do Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá - UEM, pela disponibilidade, pelo carisma e pelos ensinamentos na padronização da técnica de indução de artrite por adjuvante em ratos Wistar.

À **todos aqueles que partiram e deixaram saudades**. Acredito que o reencontro é apenas uma questão de tempo.

À **todos aqueles que cruzaram a estrada da minha vida**, deixando suas marcas. Seus nomes talvez não estejam citados aqui, mas com certeza estão gravados no meu coração.



“Conhecimento sem transformação não é sabedoria”.

(Paulo Coelho)

## RESUMO

A expectativa de vida diminui com artrite reumatoide (AR) devido ao aumento da mortalidade por doenças cardiovasculares. Isto se deve, possivelmente, à disfunção endotelial resultante da intensa atividade inflamatória relacionada à AR. Evidências tem apontado para um possível envolvimento do sistema renina-angiotensina (SRA) nos danos cardiovasculares inerentes à AR. Acredita-se que a participação do SRA agrave o comprometimento endotelial decorrente de inflamações sistêmicas através da ativação do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT<sub>1</sub>) pela angiotensina II (Ang II). Por outro lado, a literatura também reporta a influência dos hormônios andrógenos, principalmente da testosterona, nas ações da Ang II sobre os tecidos vasculares. Assim, o objetivo do presente estudo é investigar os efeitos da artrite induzida por adjuvante (AIA) sobre o equilíbrio redox, a função endotelial e as respostas da aorta de ratos à Ang II, bem como, verificar se esses efeitos podem ser influenciados pela redução dos níveis circulantes de testosterona. Para isto, ratos Wistar machos adultos foram submetidos à falsa-castração e falsa-imunização (Controles), castração seguida de falsa-imunização (ORX), falsa-castração seguida de imunização (ORX) e castração seguida de imunização (ORX+AIA). Ao final do experimento, segmentos de aorta torácica foram desafiadas em cubas de órgãos isolados com acetilcolina (ACh), Ang II, KCl e nitroprussiato de sódio e, das curvas concentração resposta obtidas, calculou-se o pEC<sub>50</sub> e efeito máximo (E<sub>max</sub>). Determinou-se também a expressão proteica dos receptores de Ang II AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> em aortas, assim como a capacidade antioxidante do plasma (FRAP), o consumo de peróxido por Xylenol Orange (FOX), o nitrito/nitrato por Griess e ácido úrico no plasma. Os resultados mostraram que tanto a AIA quanto a ORX não alteraram o perfil das curvas concentração-respostas para ACh na ausência ou presença do L-NAME (10<sup>-4</sup>M), Apocinina (10<sup>-4</sup>M) ou Tiron (10<sup>-4</sup>M). AIA ou ORX também não alteraram as respostas à Ang II na ausência ou presença de Indometacina (10<sup>-5</sup>M), KCl 60 mm/L, 1400W (10<sup>-6</sup>M) Tiron (10<sup>-4</sup>M) ou PD123,319 (10<sup>-6</sup>M). Contudo, na presença do L-NAME (10<sup>-4</sup>M), observou-se um aumento do E<sub>max</sub> da Ang II nos animais Controle e ORX em comparação aos animais submetidos à AIA. Este aumento de E<sub>max</sub>, por sua vez, desapareceu quando esse desafio foi feito em cubas contendo solução nutritiva despolarizante (KCl 60 mm/L) ou quando o BQ123 (10<sup>-6</sup>M) ou BQ788 (10<sup>-6</sup>M) foram acrescentados na incubação, junto com o L-NAME (10<sup>-4</sup>M). Observou-se também um aumento do E<sub>max</sub> da Ang II nos animais ORX, em comparação aos animais AIA e ORX+AIA, quando o desafio foi realizado na presença da Apocinina (10<sup>-4</sup>M). Além disso, AIA e/ou ORX diminuíram a expressão proteica dos receptores AT<sub>1</sub>, sem modificar os receptores AT<sub>2</sub>. Valores de FRAP, nitrito/nitrato e ácido úrico não apresentaram maiores alterações entre os grupos estudados, mas os valores de FOX diminuíram no grupo AIA. Esses dados sugerem que a AIA ou a ORX não modificam substancialmente o balanço redox sistêmico, a função endotelial, bem como as respostas da aorta à Ang II, se todos os mecanismos moduladores endoteliais estiverem presentes. Todavia, a AIA parece mobilizar mecanismos endoteliais para atuar no lugar do NO, sempre que a síntese deste é inibida. Possivelmente, tais mecanismos são ativados via receptores ET<sub>A</sub> e ET<sub>B</sub> e envolvem tanto prostanoídes vasodilatadores quanto mecanismos indutores de hiperpolarização das células da musculatura lisa vascular presentes na aorta. A testosterona, por sua vez, não parece ter um papel determinante para a mobilização desses mecanismos locais que cooperam com o NO.

**Palavras-chave:** Angiotensina II; Artrite experimental, EDHF; Endotelina-1; Eicosanóides; Testosterona

## ABSTRACT

Life expectancy of patients with rheumatoid arthritis (RA) is lower due to increased mortality in consequence of cardiovascular diseases. Presumably, this occurs due to endothelial dysfunction resulting from severe inflammatory activity related to RA. Evidence has demonstrated a possible involvement of the renin-angiotensin system (RAS) in the cardiovascular injury inherent to RA. The RAS involvement is considered to worsen the endothelial impairment due to systemic inflammation through angiotensin II type 1 receptor (AT<sub>1</sub>) activation of Ang II. (Ang II). Additionally, previous studies also observed that androgen hormones, mainly the testosterone, modulate the Ang II actions in cardiovascular tissues. Thus, the aim of the present study is to investigate the effects of adjuvant-induced arthritis (AIA) on systemic redox balance, endothelial function and rat aorta responses to Ang II, as well as, whether these effects may be influenced by the reduction of circulating levels of testosterone. For this, adult male Wistar rats were submitted to false-castration and false-immunization (Controls), castration followed by false-immunization (ORX), false-castration followed by immunization (ORX) and castration followed by immunization (ORX + AIA) . At the end of the experiment, thoracic aorta segments were challenged in isolated organ bath with acetylcholine (ACh), Ang II, KCl and sodium nitroprusside and, from the concentration-response curves obtained were calculated pEC<sub>50</sub> and maximal effect (E<sub>max</sub>). The protein expression of Ang II type 1 and 2 receptor (AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub>, respectively) were also determined, as well as, plasma antioxidant capacity (FRAP), peroxide consumption by Xylenol Orange (FOX), nitrite/nitrate by Griess and uric acid in plasma. The results showed that both AIA and ORX did not change the concentration-response curves profile for ACh in the absence or presence of L-NAME (10<sup>-4</sup>M), Apocynin (10<sup>-4</sup>M) or Tiron (10<sup>-4</sup>M). AIA or ORX also did not change Ang II responses in the absence or presence of Indomethacin (10<sup>-5</sup>M), KCl 60mm/L, 1400W (10<sup>-6</sup>M) Tiron (10<sup>-4</sup>M) or PD123,319 (10<sup>-6</sup>M). However, in the presence of L-NAME (10<sup>-4</sup>M), was observed an increase of the Ang II E<sub>max</sub> in Control and ORX animals in comparison to the animals submitted to AIA. This increase in E<sub>max</sub>, in turn, disappeared when this challenge was realized in organ bath containing depolarizing nutrient solution (KCl 60 mm/L) or when BQ123 (10<sup>-6</sup>M) or BQ788 (10<sup>-6</sup>M) were added in the incubation together with L-NAME (10<sup>-4</sup>M). It was also observed an increase of the Ang II E<sub>max</sub> in the ORX animals compared to the AIA and ORX+AIA animals, when the challenge was performed in the presence of Apocynin (10<sup>-4</sup>M). In addition, AIA and/or ORX decreased the protein expression of AT<sub>1</sub> receptors without modifying AT<sub>2</sub> receptors. The values of FRAP, nitrite/nitrate and uric acid did not show differences between the studied groups, but FOX values decreased in the AIA group. These data suggest that AIA or ORX does not substantially modify systemic redox balance, endothelial function, as well as aortic and Ang II responses, if all endothelial modulatory mechanisms are present. However, AIA seems to mobilize endothelial mechanisms to act as NO backup, whenever the synthesis of this gas is inhibited. Possibly, such mechanisms are activated via ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptors and involve both vasodilatory prostanoids and mechanisms that induce hyperpolarization of vascular smooth muscle cells present in the aorta. Testosterone, on the other hand, does not seem to play a decisive role in the mobilization of these local mechanisms that cooperate with NO.

**Keywords:** Angiotensin II; Experimental arthritis, EDHF ;, Endothelin-1; Eicosanoids; Testosterone

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Concentrações plasmáticas de testosterona expressas em ng/dL, de animais dos grupos Controle e AIA. Valores expressos em mediana  $\pm$  intervalo interquartil (p25-p75). Entre parênteses, o número de amostras..... 34
- Figura 2 - Curvas concentração-resposta (relaxamento expresso como % da pré-contracção induzida por fenilefrina) para ACh determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX ( $\square$ ), AIA ( $\bullet$ ) e ORX+AIA ( $\blacksquare$ ), na ausência (A) ou presença de L-NAME  $10^{-4}$ M (B), Apocinina  $10^{-4}$ M (C) ou Tiron  $10^{-4}$ M (D). Pontos representam média  $\pm$  E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 40
- Figura 3 - Curvas concentração-resposta para Ang II determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX ( $\square$ ), AIA ( $\bullet$ ) e ORX+AIA ( $\blacksquare$ ), na ausência (A) ou presença de Indometacina  $10^{-5}$ M (B), solução nutritiva de Krebs-Henseleit hiperpolarizante (KCl 60 mM; C) ou L-NAME  $10^{-4}$ M (D), Pontos representam média  $\pm$  E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras..... 43
- Figura 4 - Curvas concentração-resposta para Ang II determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX ( $\square$ ), AIA ( $\bullet$ ) e ORX+AIA ( $\blacksquare$ ), na presença concomitante de L-NAME  $10^{-4}$ M e BQ123  $10^{-6}$ M (A), BQ788  $10^{-6}$ M (B) ou Indometacina  $10^{-5}$ M (C), bem como, na presença do L-NAME  $10^{-4}$ M em cuba contendo solução nutritiva de Krebs-Henseleit hiperpolarizante (KCl 60 mM; D). Pontos representam média  $\pm$  E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 46
- Figura 5 - Curvas concentração-resposta para Ang II determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX ( $\square$ ), AIA ( $\bullet$ ) e ORX+AIA ( $\blacksquare$ ), na presença de Apocinina  $10^{-4}$ M. Pontos representam média  $\pm$  E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 48
- Figura 6 - Curvas concentração-resposta para Ang II determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX ( $\square$ ), AIA ( $\bullet$ ) e ORX+AIA ( $\blacksquare$ ), na presença de Tiron  $10^{-4}$ M. Pontos representam média  $\pm$  E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 49

- Figure 7 – Expressão proteica dos receptores de Ang II subtipos AT<sub>1</sub> (a) e AT<sub>2</sub> (b), em relação à GADPH, determinadas em aortas torácicas isoladas (parte superior) de animais pertencentes aos grupos Controle, ORX, AIA e ORX+AIA e quantificação densiométrica das bandas correspondentes (parte inferior). Valores expressos em mediana ± intervalo interquartil (p25-p75). \*P <0,05 em relação ao grupo controle (Kruskal-Wallis seguida por pós-teste de Dunn). ..... 50
- Figura 8 - Curvas concentração-resposta para Ang II determinadas em preparações isoladas de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX (□), AIA (•) e ORX+AIA (■), na presença de PD123,319 10<sup>-6</sup>M. Pontos representam média ± E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 51
- Figura 9 - Curvas concentração-resposta para Ang II (A) e KCl (B), determinadas em preparações de aorta torácica deendotelizadas, e para, nitroprussiato de sódio (C) determinadas em preparações intactas (C) e deendotelizadas (A e B) de aorta torácica, obtidas de animais pertencentes aos grupos Controle (o), ORX (□), AIA (•) e ORX+AIA (■). Pontos representam média ± E.P.M. Entre parênteses, o número de amostras. .... 52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa corporal (g) dos animais determinada no dia da imunização e ao final do protocolo.....	34
Tabela 2 - Massa úmida (g) dos órgãos sexuais internos e glândulas acessórias.....	35
Tabela 3 - Massa úmida (g) das patas.....	36
Tabela 4 - Diâmetro (mm) das patas determinados antes e após imunização/falsa-imunização.....	38
Tabela 5 - Massa úmida (g) do coração e do rim direito. ....	38
Tabela 6 – Valores de FRAP, FOX, $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ e ácido úrico. ....	37
Tabela 7 - Valores $E_{\text{max}}$ e $\text{pEC}_{50}$ para ACh determinados na ausência ou na presença de L-NAME ( $10^{-4}\text{M}$ ), Apocinina ( $10^{-4}\text{M}$ ) ou Tiron ( $10^{-4}\text{M}$ ). ....	41
Tabela 8 - Valores $E_{\text{max}}$ e $\text{pEC}_{50}$ para Ang II determinados em preparações estudadas na ausência ou na presença de Indometacina $10^{-5}\text{M}$ , solução nutritiva despolarizante - KCl 60 mM ou L-NAME $10^{-4}\text{M}$ . ....	44
Tabela 9 - Valores $E_{\text{max}}$ e $\text{pEC}_{50}$ para Ang II determinados na presença de L-NAME $10^{-4}\text{M}$ associado ao BQ123 $10^{-6}\text{M}$ , BQ788 $10^{-6}\text{M}$ , Indometacina $10^{-5}\text{M}$ ou solução nutritiva despolarizante – KCl 60 mM. ....	47
Tabela 10 - Valores $\text{pEC}_{50}$ para KCL e nitroprussiato de sódio. ....	53

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ACh - acetilcolina  
AIA – artrite induzida por adjuvante  
Ang II – angiotensina II  
AR – artrite reumatoide  
AT<sub>1</sub> – receptor de angiotensina II tipo 1  
AT<sub>2</sub> – receptor de angiotensina II tipo 2  
BH<sub>4</sub> - tetrahidrobiopterina  
CIA – *collagen induced arthritis*  
ECA – enzima conversora de angiotensina  
EDHF – *endothelium-derived hyperpolarizing factors*  
eNOS – óxido nítrico sintase endotelial  
ET - endotelina  
ET<sub>A</sub> – receptor de endotelina tipo A  
ET<sub>B</sub> – receptor de endotelina tipo B  
FOX – *ferrous oxidation – xylenol Orange*  
FRAP – *ferric reducing activity of plasma*  
IAM – infarto agudo do miocárdio  
ICC – insuficiência cardíaca congestiva  
IL-1 – interleucina 1  
IL-6 – interleucina 6  
IL-7 $\alpha$  – interleucina 7 alfa  
INF-c – interferon c  
iNOS – óxido nítrico sintase endotelial  
MPP-9 – metaloproteinase 9  
MPO - mieloperoxidase  
NO – óxido nítrico  
ORX – castração bilateral cirúrgica  
ROS – espécies reativas de oxigênio  
SRA – sistema renina-angiotensina  
TNF-  $\alpha$  – fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	15
1.1 Artrite Reumatoide.....	15
1.2 Artrite e danos cardiovasculares.....	16
1.3 Busca por modelos experimentais que reproduzam de forma fidedigna os danos cardiovasculares relacionados à AR.....	18
1.4 Envolvimento do sistema renina-angiotensina nos danos cardiovasculares inerentes à artrite.....	19
1.5 Influência da testosterona nas ações cardiovasculares induzidas pela Ang II.....	21
1.6 Lacunas remanescentes.....	22
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	23
2.1 Objetivo Geral.....	23
2.2 Objetivos específicos.....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
3.1 Animais.....	24
3.2 Delineamento experimental.....	25
3.3 Castração cirúrgica bilateral - ORX.....	25
3.4 Artrite induzida por adjuvante – AIA.....	26
3.5 Ectoscopia dos animais AIA, com foco nas patas.....	27
3.6 Pesagens.....	27
3.7 Protocolo de coleta do plasma.....	27
3.8 <i>Ferric Reducing Activity of Plasma</i> - FRAP.....	28
3.9 Quantificação da peroxidação lipídica.....	28
3.10 Avaliação das concentrações de nitrito e nitrato por método de Griess.....	29
3.11 Determinação do ácido úrico.....	29
3.12 Determinação de testosterona plasmática.....	29
3.13 Isolamento e montagem das preparações de aorta torácica para estudo funcional de reatividade vascular.....	30
3.14 Curvas concentração-resposta.....	30
3.15 Análise de parâmetros farmacológicos.....	31
3.16 Avaliação da expressão proteica - Western Blotting.....	31
3.17 Diagrama experimental.....	33
3.18 Análise Estatística.....	33



<b>4. RESULTADOS</b> .....	33
<b>4.1 Massa Corporal</b> .....	33
<b>4.2 Dosagem de testosterona plasmática</b> .....	34
<b>4.3 Massa úmida dos órgãos sexuais internos e glândulas acessórias</b> .....	35
<b>4.4 Massa úmida e diâmetro das patas</b> .....	35
<b>4.5 Massas úmidas do coração e rim</b> .....	37
<b>4.6 Balanço redox do plasma</b> .....	38
<b>4.7 Estudo das respostas da aorta à ACh</b> .....	39
<b>4.8 Estudo das respostas da aorta à Ang II</b> .....	41
<b>4.8.1 Influência do NO, prostanoídes e mecanismos hiperpolarizantes</b> .....	42
<b>4.8.2 Interação do NO com endotelina, prostanoídes e mecanismos hiperpolarizantes</b> ..	44
<b>4.8.3 Influência de espécies reativas nas respostas da aorta à Ang II</b> .....	48
<b>4.9 Estudo da expressão proteica para os receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> de Ang II em aortas</b> ...	49
<b>4.10 Participação dos receptores AT<sub>2</sub> nas respostas da aorta à Ang II</b> .....	50
<b>4.11 Estudo das respostas à Ang II e ao KCl em aortas deendotelizadas, e ao nitroprussiato de sódio em aortas intactas</b> .....	51
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	53
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69

# 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

## 1.1 Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença reumática relativamente frequente. Trata-se de uma condição que acomete até 1% da população mundial adulta (SKARE, 2007; SATO, 2010; GOELDNER et al., 2011; MOTA et al., 2011). Sua ocorrência é observada em todos os grupos étnicos, dispersos entre as diferentes regiões do mundo, com predomínio no sexo feminino, sobretudo na faixa etária de 30-50 anos, embora haja registro em todas as idades (SKARE, 2007; CARVALHO; LANNA; BERTOLO, 2008; SATO, 2010; MOTA et al., 2011; PEREIRA et al., 2012). No Brasil, uma análise retrospectiva dos pacientes com AR em acompanhamento ambulatorial no Estado de São Paulo, entre 2002 e 2005, delineou o seguinte perfil epidemiológico: mulher (86%), faixa etária 40-59 anos (55%), caucasóide (71%) e história de início de doença há menos de dez anos (71%). Esta visão, mesmo que parcial, se assemelha às características relatadas em populações de outros países (LOUZADA JR, 2007).

Trata-se de uma doença autoimune, crônica, multissistêmica e de etiologia desconhecida, cujas principais alterações ocorrem ao nível das estruturas articulares, periarticulares e tendinosas. Caracteriza-se por um intenso processo inflamatório na sinóvia, deposição de fibrina, hiperplasia de células sinoviais, infiltrados mononucleares, formação de tecido celular invasivo (*pannus*), e, eventual anquilose em uma ou mais articulações periféricas, onde mãos e pés são preferencialmente acometidos. Vale ressaltar que a gravidade e o tempo de doença estão diretamente relacionados com as alterações ocasionadas pela inflamação e hipertrofia do tecido sinovial, onde a desorganização biomecânica das estruturas articulares provoca além da dor local, instabilidade articular, deformidades e perda de função (MOREIRA; CARVALHO, 1996; SKARE, 2007; CARVALHO; LANNA; BERTOLO, 2008; LEVY; PACHECO, 2009; KUMAR et al., 2010; PEREIRA et al., 2012).

Embora sua etiologia ainda permaneça obscura, muitos avanços têm ocorrido no estudo de sua patogênese. Admite-se que o desenvolvimento da doença se deva à interação de diversos fatores como: patrimônio genético do hospedeiro (antígenos HLA-DR4 e HLA-DR1), fatores comportamentais, agentes ambientais, desequilíbrio imunológico e alterações endócrinas (SKARE, 2007; CARVALHO; LANNA; BERTOLO, 2008; SATO, 2010). Neste sentido, a evolução da AR ocorre a partir da manutenção da reação autoimune, com ativação das células T *helper* CD4+ e outros linfócitos, desregulação da produção de citocinas pró-

inflamatórias e transformação da sinóvia em *pannus*, levando à destruição da articulação (SKARE, 2007; CARVALHO; LANNA; BERTOLO, 2008; KUMAR et al, 2010; SATO, 2010).

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo não identificou modificações drásticas induzidas pela AIA e/ou pela ORX, em ratos Wistar na função endotelial e nas respostas induzidas pela Ang II quando todos os mecanismos moduladores endoteliais estão presentes. Entretanto, quando os mecanismos endoteliais relacionados ao NO foram bloqueados, observou-se um aumento nas respostas à Ang II em aortas de animais não-imunizados. Aparentemente, este aumento depende parcialmente da testosterona, visto que as respostas à Ang II nestas preparações são menores. Por sua vez, nas aortas de animais submetidos à AIA, mecanismos locais parecem ser mobilizados para atuar como uma espécie de “backup” ao NO na modulação das respostas à Ang II, sempre que a produção deste gás é inibida ou sua biodisponibilidade é comprometida por conta do estresse oxidativo local. Possivelmente esses mecanismos locais, que cooperam com o NO, são ativados pela estimulação dos receptores ET<sub>A</sub> e ET<sub>B</sub> e envolvem tanto prostanoides vasodilatadores quanto mecanismos indutores de hiperpolarização das células da musculatura lisa vascular presentes na aorta.

## REFERÊNCIAS

- ALKAABI, J.K.; HO, M.; LEVISON, R.; PULLAR, T.; BELCH, J.J. Rheumatoid arthritis and macrovascular disease. **Rheumatology (Oxford)**, v. 42, n. 2, p. 292-297, 2003.
- ARAB, K.; STEGHENS, J.P. Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. **Anal. Biochem.**, v.325, n.1, p.158-63, 2004.
- BARBIER, A.; BRELIERE, J.C.; RONCUCCI, R. Preliminary study of testosterone levels in rats with adjuvant arthritis. **Arthritis. Rheum.**, v. 28, n. 8, p. 959-960, 1985.
- BENDELE, A.; MCCOMB, J.; GOULD, T.; MCABEE, T.; SENELLO, G.; CHLIPALA, E.; GUY, M. Animal models of arthritis: relevance to human disease. **Toxicol. Pathol.**, v. 27, n. 1, p. 134-42, 1999.
- BENDELE A. Animal models of rheumatoid arthritis. **J. Musculoskelet. Interact.**, v.1, n, 4, p.377-385, 2001.
- BERGHOLM, R.; LEIRISALO-REPO, M.; VEHKAVAARA, S.; MÄKIMATTILA, S.; TASKINEN, M. R.; YKI-JÄRVINEN, H. Impaired responsiveness to NO in newly diagnosed patients with rheumatoid arthritis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.22, n. 10, p. 1637-41, 2002.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal. Biochem.**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BLANCO-RIVERO, J.; BALFAGÓN, G.; FERRER, M. Orchidectomy modulates  $\alpha_2$ -adrenoceptor reactivity in rat mesenteric artery through increased thromboxane A<sub>2</sub> formation. **Vasc. Res.**, v.43, n.1, p.101-108, 2006.
- BRENNAN, P.; O'NEILL, L.A. Inhibition of nuclear factor kappaB by direct modification in whole cells--mechanism of action of nordihydroguaiaritic acid, curcumin and thiol modifiers. **Biochem. Pharmacol.**, v.55, n.7, p.965-973, 1998.
- BROWN, T.; GONZALEZ, J.; MONTELEONE, C. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema: A review of the literature. **J. Clin. Hypertens. (Greenwich)**, v. 19, n. 12, p. 1377-1382, 2017.
- BOTS, M. L.; HOFMAN, A.; DE JONG, P.T.; GROBBEE, D.E. Common carotid intima-media thickness as an indicator of atherosclerosis at other sites of the carotid artery. The Rotterdam study. **Ann. Epidemiol.**, v. 6, n. 2, p. 147-153, 1996.
- BRUOT, B.C.; CLEMENS, J.W. Effect of adjuvant-induced arthritis on serum luteinizing hormone and testosterone concentrations in the male rat. **Life. Sci.**, v. 41, n. 13, p. 1559-1565, 1987.
- CACANYIOVA, S.; DOVINOVA, I.; KRISTEK, F. The role of oxidative stress in acetylcholine-induced relaxation of endothelium-denuded arteries. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 64, n. 2, p. 241-247, 2013.

CAMPION, S.; CATLIN, N.; HEGER, N.; MCDONNELL, E. V.; PACHECO, S. E.; SAFFARINI, C.; SANDROF, M. A.; BOEKELHEIDE, K. Male reprotoxicity and endocrine disruption. **EXS.**, v. 101, p. 315-360, 2012.

CAPARROZ-ASSEF, S.M.; SALGUEIRO-PAGADIGORRIA, C.L.; BERSANI-AMADO, C. A.; BRACHT, A.; KELMER-BRACHT, A.M.; ISHII-IWAMOTO, E.L. The uncoupling effect of the nonsteroidal anti-inflammatory drug nimesulide in liver mitochondria from adjuvant-induced arthritic rats. **Cell. Biochem. Funct.**, v. 19, n. 2, p. 117-124, 2001.

CARDA, A.P.; MARCHI, K.C.; RIZZI, E.; MECAWI, A.S.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; PADOVAN, C.M.; et al. Acute restraint stress induces endothelial dysfunction: role of vasoconstrictor prostanoids and oxidative stress. **Stress.**, v.1 8, p. 1-11, 2015.

CARVALHO, M.A.; LANNA, C.C.; BERTOLO, M.B. **Reumatologia**: diagnóstico e tratamento. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 675 p.

CAN, C.; CINAR, M.G.; KOSAY, S.; EVINÇ, A. Vascular endothelial dysfunction associated with elevated serum homocysteine levels in rat adjuvant arthritis: effects of vitamin E administration. **Life. Sci.**, v.71, n.4, p.401-410, 2002.

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cir. Bras.**, v. 17, n. 6 p. 417-423, 2002.

CHIES, A.B.; DE SOUZA ROSSIGNOLI, P. Exercise increases the phenylephrine effects in isolated portal vein of trained rats. **Vascul. Pharmacol.**, v. 51, n. 2-3, p. 125-132, 2009.

CHIES, A.B.; ROSSIGNOLI, P.S.; BAPTISTA, R.F.; DE LÁBIO, R.W.; PAYÃO, S.L. Exercise reduces angiotensin II responses in rat femoral veins. **Peptides**, v. 44, p. 47-54, 2013.

CHIES, A.B.; ROSSIGNOLI, P.S.; BAPTISTA, R.F.; DE LÁBIO, R.W.; PAYÃO, S.L. PAYÃO SL. Prostanoids counterbalance the synergism between endothelin-1 and angiotensin II in mesenteric veins of trained rats. **Peptides**, v. 88, p. 67-73, 2017.

CHINNATHAMBI, V.; MORE, A.S.; HANKINS, G.D.; YALLAMPALLI, C.; SATHISHKUMAR, K. Gestational exposure to elevated testosterone levels induces hypertension via heightened vascular angiotensin ii type 1 receptor signaling in rats. **Biol. Reprod.**, v. 91, n. 1, p. 6, 2014.

CLEMENS, J.W.; BRUOT, B.C. Testicular dysfunction in the adjuvante-induced arthritic rat. **J. Androl.**, v. 10, n. 6, p. 419-424, 1989.

CUTOLO, M. Sex hormone adjuvante therapy in rheumatoid arthritis. **Rheum. Dis. Clin. North. Am.**, v.26, n.4, p.881-895, 2000.

ÇINAR, M. G.; CAN, C.; ULKER, S.; GÖK, S.; COKER, C.; SOYKAN; N.; et al. Effect of vitamin E on vascular responses of thoracic aorta in rat experimental arthritis. **Gen. Pharmacol.**, v.31, n.1, p.149-1953, 1998.

DE GASPARO, M.; CATT, K. J.; INAGAMI, T.; WRIGHT, J. W.; UNGER, T. International union of pharmacology XXIII: the renin angiotensin II receptors. **Pharmacol. Rev.**, v. 52, p. 415-472, 2000.

D'ORLÉANS-JUSTE, P.; TÉLÉMAQUE, S.; CLAING, A.; IHARA, M.; YANO, M. Human big endothelin-1 and endothelin-1 release prostacyclin via the activation of ET1 receptors in the rat perfused lung. **Br. Pharmacol.**, v. 105, p. 773-775, 1992.

FABBRINI, E.; SERAFINI, M.; BARIC, I.C.; HAZEN, S.L.; KLEIN, S. Effect of plasma uric acid on antioxidant capacity, oxidative stress, and insulin sensitivity in obese subjects. **Diabetes**, v. 63, p. 976-981, 2014.

FANG, Z.Y.; FONTAINE, J.; UNGER, P.; BERKENBOOM, G. Alterations of the endothelial function of isolated aortae in rats with adjuvant arthritis. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 311, p. 122-130, 1991.

FLAMMER, A.J.; SUDANO, I.; HERMANN, F.; GAY, S.; FORSTER, A.; NEIDHART, M.; KÜNZLER, P.; ENSELEIT, F.; PÉRIAT, D.; HERMANN, M.; NUSSBERGER, J.; LUSCHER, T. F.; CORTI, R.; NOLL, G.; RUSCHITZKA, F. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves vascular function in rheumatoid arthritis. **Circulation**, v. 117, n. 17, p. 2262-2269, 2008.

FERREIRA, L.M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M.V. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta. Cir. Bras.**, v. 20, p. 28-34, 2005.

FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

GABRIEL, S.E. Cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis. **Am. J. Med.**, v. 121, n. 10, p. S9-14, 2008.

GRANGER, D.L.; TRAIKTOR, R.R.; BOOCKVAR, K.S.; HIBBS JUNIOR, J.B. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess Reaction. **Methods. Enzymol.**, v. 268, p. 141-51, 1996.

GRIENGLING, K.K.; MINIERI, C.A.; OLLERENSHAW, J.D.; ALEXANDER, R.W. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth cells. **Circ. Res.**, v. 74, p. 1141-1148, 1994.

GRIENGLING, K.K.; LASSEGUE, B.; ALEXANDER, R.W.; Angiotensin receptors and their therapeutic implications. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 36, p. 281-306, 1996.

GOELDNER, I.; SKARE, T.L.; REASON, I.T.; UTIYAMA, S. R. Artrite reumatoide: uma visão atual. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 47, n. 5, p. 495-503, 2011.

GONZALES, R.J.; KRAUSE, D.N.; DUCKLES, S.P. Testosterone suppresses endothelium-dependent dilation of rat middle cerebral arteries. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 286, n. 2, p. H552-H560, 2004

GORDON, D.; BEASTALL, G.H.; THOMSON, J.A.; STURROCK, R.D. Androgenic status and sexual function in males with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. **Q. J. Med.**, v. 60, n. 231, p. 671-679, 1986.

HAK, A.E.; WITTEMAN, J.C.; JONG, F.H.; GEERLINGS, M.I.; HOFMAN, A.; POLS, H. A. Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: the Rotterdam study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, n. 8, p. 3632-9, 2002.

HANNAMI, S.; ALSALMI, I.; MOLLER, I.; NAREDO, E. Uric acid is independent cardiovascular risk factor, as manifested by increased carotid intima-media thickness in rheumatoid Arthritis patients. **Clin. Rheumatol.**, v. 36, n. 8, p. 1897-1902, 2017.

HARBUZ, M.S, PERVEEN-GILL, Z.; LIGHTMAN, S.L.; JESSOP, D.S. A protective role for testosterone in adjuvant-induced arthritis. **Br. J. Rheumatol.**, v. 34, n. 12, p. 1117-1122, 1995.

HARUNA, Y.; MORITA, Y.; KOMAI, N.; YADA, T.; SAKUTA, T.; TOMITA, N.; FOX, D. A.; KASHIHARA, N. Endothelial dysfunction in rat adjuvant-induced arthritis: vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase and uncoupled endothelial nitric oxide synthase. **Arthritis Rheum.**, v. 54, n. 6, p. 1847-1855, 2006.

HARUNA, Y.; MORITA, Y.; YADA, T.; SATOH, M.; FOX, D.A.; KASHIHARA, N. Fluvastatin reverses endothelial dysfunction and increased vascular oxidative stress in rat adjuvant-induced arthritis. **Arthritis. Rheum.**, v. 56, n. 6, p. 1827-1835, 2007.

HEGEN, M.; KEITH JR, J.C.; COLLINS, M.; NICKERSON-NUTTER, C.L. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 67, n. 11, p. 1505-1515, 2008.

HEISS, G.; SHARRETT, A.R.; BARNES, R.; CHAMBLESS, L.E.; SZKLO, M.; ALZOLA, C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 134, n. 3, p. 250-256, 1991.

HIRAO, M.; YAMASAKI, N.; OZE, H.; EBINA, K.; NAMPEI, A.; KAWATO, Y. et al. Serum level of oxidative stress marker is dramatically low in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. **Rheumatol. Int.**, v. 32, n. 12, p.4041-4045, 2012.

HU, G.; LI, X.; ZHANG, S.; WANG, X. Association of rat thoracic aorta dilatation by astragaloside IV with the generation of endothelium-derived hyperpolarizing factors and nitric oxide, and the blockade of Ca(2+) channels. **Biomed. Rep.**, v. 5, n. 1, p. 27-34, 2016.

JIANG, Z.; WOOLLARD, A.C.S.; WOLF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and an iodometric method. **Lipids.**, v. 26, p. 853-856, 1991.

KANG, N.N.; FU, L.; XU, J.; HAN, Y.; CAO, J. X.; SUN, J.F.; ZHENG, M. et al. Testosterone improves cardiac function and alters angiotensin II receptors in isoproterenol-induced heart failure. **Arch. Cardiovasc. Dis.**, v. 105, n. 2, p. 68-76, 2012.



- KANIE, N.; KAMATA, K. Contractile responses in spontaneously diabetic mice. I. Involvement of superoxide anion in enhanced contractile response of aorta to norepinephrine in C57BL/KsJ(db/db) mice. **Gen. Pharmacol.**, v.35, n.6, p.311-318, 2000.
- KHAN, F.; GALARRAGA, B.; BELCH, J.J. The role of endothelial function and its assessment in rheumatoid arthritis. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 6, n. 5, p. 253-261, 2010.
- KOBAYASHI, T.; NOGAMI, T.; TAGUCHI, K.; MATSUMOTO, T.; KAMATA, K. Diabetic state, high plasma insulin and angiotensin II combine to augment endothelin-1-induced vasoconstriction via ETA receptors and ERK. **Br. J. Pharmacol.** v. 155, n. 7, p. 974-983, 2008.
- KOHAN, D.E.; ROSSI, N.F.; INSCHO, E.W.; POLLOCK, D.M. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin. **Physiol. Rev.**, v. 91, n. 1, p. 1-77, 2011.
- KRAVTSOV, G.M.; KWAN, C.Y. A revisit on the mechanism of action of KCl-induced vascular smooth muscle contraction: a key role of cation binding to the plasma membrane. **Biol. Signals.**, v. 4, n. 3, p. 160-167, 1995.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran patologia: bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.
- KUMEDA, Y.; INABA, M.; GOTO, H.; NAGATA, M.; HENMI, Y.; FURUMITSU, Y.; ISHIMURA, E.; INUI, K.; YUTANI, Y.; MIKI, T.; SHOJI, T.; NISHIZAWA, Y. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 46, n. 6, p. 1489-1497, 2002.
- LEE, J.J.; BYKERK, V.P.; DRESSER, G.K.; BOIRE, G.; HARAOU, B.; HITCHON, C.; THORNE, C.; TIN, D.; JAMAL, S.; KEYSTONE, E.C.; POPE, J.E. reduction in serum uric acid may be related to methotrexate efficacy in early rheumatoid arthritis: data from the canadian early arthritis cohort (CATCH). **Clin. Med. Insights Arthritis Musculoskelet. Disord.**, v. 4, n. 9, p. 37-43, 2016.
- LEVY, R. A.; PACHECO, M. S. Artrite reumatoide: como eu trato. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 96, n. 5, p. 32-36, 2009.
- LIMA, M.C.; MASSABKI, P.S. Fatores de risco para doenças cardiovasculares na artrite reumatoide: tabagismo e aterosclerose. **Rev. Soc. Bras. Clin. Med.**, v. 7, n. 5, p. 343-347, 2009.
- LIU, P.Y.; DEATH, A.K.; HANDELSMAN, D.J. Androgens and cardiovascular disease. **Endocr. Rev.**, v.24, n. 3, p. 313-40, 2003.
- LOUZADA JR, P.; SOUZA, B.D.; TOLEDO, R.A.; CICONELLI, R. M. Análise descritiva das características demográficas e clínicas de pacientes com artrite reumatóide no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 47, n. 2, p. 84-90, 2007.
- MACKENZIE, A.; DUNNING, L.; FERRELL, W.R.; LOCKHART, J.C. Angiotensin II type 1 receptor blockade protects endothelium-derived hyperpolarising factor-mediated relaxation in a rat model of monoarthritis. **Life. Sci.**, v. 92, n. 23, p. 1131-1137, 2013.

MAGUIRE, J.J.; DAVENPORT, A.P. Endothelin receptors and their antagonists. **Semin. Nephrol.**, v. 35, n. 2, p. 125-136, 2015.

MARIC-BILKAN, C.; MANIGRASSO, M.B. Sex differences in hypertension: contribution of the renin-angiotensin system. **Gend. Med.**, v. 9, n. 4, p. 287-91, 2012.

MARQUES NETO, J.F.; GONÇALVES, E.T.; LANGEN, L.F.; CUNHA, M.F.; RADOMINSKI, S.; OLIVEIRA, S.M.; CURY, S.E.; MEDEIROS, F.; SAMPAIO, G.C. Multicentric study of the prevalence of adult rheumatoid arthritis in brazilian population samples. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 33, p. 169-173, 1993.

MATSUBARA, H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. **Circ. Res.**, v. 83, p. 1182-1191, 1998.

MATSUDA, K.; RUFF, A.; MORINELLI, T.A.; MATHUR, R.S.; HALUSHKA, P.V. Testosterone increases thromboxane A<sub>2</sub> receptor density and responsiveness in rat aortas and platelets. **Am. J. Physiol.**, v.267, 3 Pt2, p.H887-H893, 1994.

MAYES, M.D. Endothelin and endothelin receptor antagonists in systemic rheumatic disease. **Arthritis. Rheum.**, v. 48, n. 5, p. 1190-11909, 2003.

MAZZUCA, M.Q.; KHALIL, R.A. Vascular endothelin receptor type B: structure, function and dysregulation in vascular disease. **Biochem. Pharmacol.**, v.84, n. 2, p. 147-162, 2012.

MÄKI-PETÄJÄ, K.M.; CHERIYAN, J.; BOOTH, A. D.; HALL, F.C.; BROWN, J.; WALLACE, S.M.; ASBY, M.J.; MCENIERY, C.M.; WILKINSON, I.B. Inducible nitric oxide synthase is increased in patients with rheumatoid arthritis and contributes to endothelial dysfunction. **Int. J. Cardiol.**, v. 129, n. 3, p. 399-405, 2008.

McKEE, A.P.; van RIPER, D.A.; DAVISON, C.A.; SINGER, H.A. Gender-dependent modulation of  $\alpha_1$ - adrenergic responses in rat mesenteric arteries. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 284, n. 5, p.H1737-H1743, 2003.

MIDTBØ, H.; GERDTS, E.; KVIEN, T.K.; OLSEN, I.C.; HIRTH, A.; SKULSTAD, E., et al. Disease activity and left ventricular structure in patients with rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, v. 54, p. 511-519, 2015.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 109-42, 1991.

MOREIRA, C.; CARVALHO, M.A. **Noções práticas de reumatologia**. Belo Horizonte: Health, 1996. 1 v.

MOTA, I.M.; CRUZ, B.A.; BRENOL, C.V.; PEREIRA, I.A.; FRONZA, L.S.; BERTOLO, M. B.; FREITAS, M.V.; SILVA, N.A.; LOUZADA JUNIOR, P.; GIORGI, R.D.; LIMA, R.A.; PINHEIRO, G.R. Consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia 2011 para o diagnóstico e avaliação inicial da artrite reumatoide. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 51, n. 3, p. 199-219, 2011.

MULLER, M.; VAN DEN BELD, A.W.; BOTS, M.L.; GROBBEE, D.E.; LAMBERTS, S. W.; VAN DER SCHOUW, Y.T. Endogenous sex hormones and progression of carotid atherosclerosis in elderly men. **Circulation**, v. 109, n. 17, p. 2074-9, 2004.

MYASOEDOVA, E.; DAVIS III, J.M.; CROWSON, C.S.; ROGER, V.L.; KARON, B.L.; BORGESON, D.D., et al. Rheumatoid arthritis is associated with left ventricular concentric remodeling: results of a population-based cross-sectional study. **Arthritis Rheum.** v. 65, n. 7, p. 1713-1718, 2013.

NAGY, G.; KONCZ, A.; TELARICO, T.; FERNANDEZ, D.; ERSEK, B.; BUZÁS, E. et al. Central role of nitric oxide in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Arthritis Res. Ther.**, v. 12, n. 3, p. 210, 2010.

NOZAKI, K.; GOTO, H.; NAKAGAWA, T.; HIKIAMI, H.; KOIZUMI, K.; SHIBAHARA, N.; SHIMADA, Y. Effects of keishibukuryogan on vascular function in adjuvant-induced arthritis rats. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 30, n. 6, p. 1042-1047, 2007.

OJEDA, N.B.; ROYALS, T.P.; BLACK, J.T.; DASINGER, J.H.; JOHNSON, J.M.; ALEXANDER, B.T. Enhanced sensitivity to acute angiotensin II is testosterone dependent in adult male growth-restricted offspring. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 298, n. 5, p. R1421-7, 2010.

OLIVER, S.J.; BRAHN, E. Combination therapy in rheumatoid arthritis: the animal model perspective. **J. Rheumatol. Suppl.**, v. 44, p. 56-60, 1996.

ORIJ, G.K.; KEISER, H. R. Protein kinase C mediates angiotensin II-induced contractions and the release of endothelin and prostacyclin in rat aortic rings. **Prostaglandins Leukot. Esset. Fatty Acids**, v. 57, p. 135-141, 1997.

PACHE, M.; SCHWARZ, H.A.; KAISER, H.J.; WÜEST, P.; KLÖTI, M.; DUBLER, B.; et al. Elevated plasma endothelin-1 levels and vascular dysregulation in patients with rheumatoid arthritis. **Med. Sci. Monit.** v. 8, n. 9, p. CR616-619, 2002.

PACURARI, M.; KAFOURY, R.; TCHOUNWOU, P.B.; NDBELE, K. The renin-angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. **Int. J. Inflamm.**, v. 2014, p. 1-13, 2014.

PALMA ZOCHIO TOZZATO, G.; TAIPEIRO, E.F.; SPADELLA, M.A.; MARABINI FILHO, P.; DE ASSIS, M.R.; CARLOS, A.P. et al. Collagen-induced arthritis increases inducible nitric oxide synthase not only in aorta but also in the cardiac and renal microcirculation of mice. **Clin. Exp. Immunol.**, v.183, n.3, p.341-349, 2016.

PARK, Y.B.; AHN, C.W.; CHOI, H. K.; LEE, S.H.; IN, B.H.; LEE, H.C.; NAM, C.M.; LEE, S.K. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: morphologic evidence obtained by carotid ultrasound. **Arthritis Rheum.**, v. 46, n. 7, p. 1714-1719, 2002.

PEREIRA, I.A.; MOTA, I.M.; CRUZ, B.A.; BRENOL, C.V.; FRONZA, L.S.; BERTOLO, M. B.; FREITAS, M.V.; SILVA, N.A.; LOUZADA JUNIOR, P.; GIORGI, R.D.; LIMA, R.A.; PINHEIRO, G.R. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da artrite reumatoide. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 52, n. 2, p. 152-174, 2012.

PRATI, C.; BERTHELOT, A.; WENDLING, D.; DEMOUGEOT, C. Endothelial dysfunction in rat adjuvant-induced arthritis: up-regulation of the vascular arginase pathway. **Arthritis Rheum.**, v. 63, n. 8, p. 2309-2317, 2011.

RECKELHOFF, J.F. Sex steroids, cardiovascular disease, and hypertension: unanswered questions and some speculations. **Hypertension**, v.45, p.170-174, 2005.

REYNOLDS, S.I.; WILLIAMS, A.S.; WILLIAMS, H.; SMALE, S.; STEPHENSON, H.J.; AMOS N.; GEORGE, S.J.; O'DONNELL, V.B.; LANG, D. Contractile, but not endothelial, dysfunction in early inflammatory arthritis: a possible role for matrix metalloproteinase-9. **Br. J. Pharmacol.**, v. 167, n. 3, p. 505-5014, 2012.

ROCHA, O.M.; BATISTA, A.A.; MAESTÁ; N.; BURINI, R. C.; LAURINDO, I.M. Sarcopenia da caquexia reumatoide: conceituação, mecanismos, consequências clínicas e tratamentos possíveis. **Rev. Bras. Reumatol.**, v.49, n.3, p.288-301, 2009.

ROSANO, G.M.; SHEIBAN, I.; MASSARO, R.; PAGNOTTA, P.; MARAZZI, G.; VITALE, C.; MERCURO, G.; VOLTERRANI, M.; AVERSA, A.; FINI, M. Low testosterone levels are associated with coronary artery disease in male patients with angina. **Int. J. Impot. Res.**, v. 19, n. 2, p.176-82, 2007.

ROSSIGNOLI, P.S.; PEREIRA, O.C.M.; CHIES, A.B. Orchidectomy enhances the effects of phenylephrine in rat isolated portal vein. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.37, n.3, p.368-374, 2010.

SAKUTA, T.; MORITA, Y.; SATOH, M.; FOX, D. A.; KASHIHARA, N. Involvement of the renin-angiotensin system in the development of vascular damage in a rat model of arthritis: effect of angiotensin receptor blockers. **Arthritis Rheum.**, v. 62, n. 5, p. 1319-1328, 2010.

SATO, E. I. **Guia de reumatologia**. 2. ed. Barueri: Manole, 2010. 519 p.

SARBAN, S.; KOCYIGIT, A.; YAZAR, M.; ISIKAN, U.E. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Clin. Biochem.**, v.38, n.11, p.981-986, 2005.

SEVEN, A.; GÜZEL, S.; ASLAN, M.; HAMURYUDAN, V. Lipid, protein, DNA oxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis. **Clin. Biochem.**, v. 41, n. 7-8, p. 538-543, 2008.

SILVA-ANTONIALLI, M.M.; TOSTES, R.C.; FERNANDES, L.; FIOR-CHADI, D.R.; AKAMINE, E.H.; CARVALHO, M.H.; FORTES, Z.B.; NIGRO, D.A lower ratio of AT1/AT2 receptors of angiotensin II is found in female than in male spontaneously hypertensive rats. **Cardiovasc. Res.**, v. 62, n. 3, p. 587-93, 2004.

SHI, Q.; ABUSARAH, J.; BAROUDI, G.; FERNANDES, J.C.; FAHMI, H.; BENDERDOUR, M. Ramipril attenuates lipid peroxidation and cardiac fibrosis in an experimental model of rheumatoid arthritis. **Arthritis. Res. Ther.**, v. 14, n. 5, p. R223, 2012.

SHIMIZU, I.; MINAMINO, T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. **J. Mol.**

**Cell. Cardiol.**, v.97, p.245-262, 2016.

SKARE, T.L. **Reumatologia**: princípios e práticas. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 335 p.

SONG, J.; KOST JR, C.K.; MARTIN, D.S. Androgens augment renal vascular responses to ANG II in New Zealand genetically hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 290, n. 6, p.R1608-15, 2006a.

SONG, J.; KOST JR, C.K.; MARTIN, D.S. Androgens potentiate renal vascular responses to angiotensin II via amplification of the Rho kinase signaling pathway. **Cardiovasc. Res.**, v. 72, n. 3, p. 456-63, 2006b.

SONG, J.; EYSTER, K.M.; KOST JR, C.K.; KJELLEN, B.; MARTIN, D.S. Involvement of protein kinase C-CPI-17 in androgen modulation of angiotensin II-renal vasoconstriction. **Cardiovasc. Res.**, v. 85, n. 3, p. 614-21, 2010.

STAMP, L.K.; KHALILOVA, I.; TARR, J.M.; SENTHILMOHAN, R.; TURNER, R.; HAIGH, R.C. et al. Myeloperoxidase and oxidative stress in rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 51, n. 10, p. 1796-1803, 2012.

STORCH, A. S.; MATTOS, J. D.; ALVES, R.; GALDINO, I. S.; ROCHA, H. N. M. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. **Int. J. Cardiovasc. Sci.**, v. 30, n. 3, p. 262-273, 2017 .

TEIXEIRA, V.O.; FILIPPINI, L.I.; XAVIER, R.M. Mecanismos de perda muscular da sarcopenia. **Rev. Bras. Reumatol.**, v.52, n.2, p.247-259, 2012.

TÉLÉMAQUE, S.; GRATTON, J.P.; CLAING, A.; D'ORLÉANS-JUSTE P. Endothelin-1 induces vasoconstriction and prostacyclin release via the activation of endothelin ETA receptors in the perfused rabbit kidney. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 237, p. 275-281, 1993.

TIMMERMANS, P.B.; WONG, P.C.; CHIU, A.T.; HERBLIN, W.F.; BENFIELD, P.; CARINI, D.J. et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. **Pharmacol. Rev.**, v. 45, p. 205-251, 1993.

TIRAPELLI, C.R.; CASOLARI, D.A.; YOGI, A.; MONTEZANO, A.C.; TOSTES, R.C.; LEGROS, E. et al. Functional characterization and expression of endothelin receptors in rat carotid artery: involvement of nitric oxide, a vasodilator prostanoid and the opening of K<sup>+</sup> channels in ETB-induced relaxation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 146, n. 6, p. 903-912, 2005.

TOGARI, A.; ARAI, M.; MOGI, M.; KONDO, A.; NAGATSU, T. Coexpression of GTP cyclohydrolase I and inducible nitric oxide synthase mRNAs in mouse osteoblastic cells activated by proinflammatory cytokines. **FEBS Lett.**, v.428, n.3, p.212-216, 1998.

TORIGOE, D.Y.; LAURINDO, I.M. Artrite reumatóide e doenças cardiovasculares. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 46, p. 60-66, 2006.

TORRES, L.; ANDERSON, C.; MARRO, P.; MISHRA, O.P.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. Cyclooxygenase-mediated generation of free radicals during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets. **Neurochem. Res.**, v. 29, n. 10, p. 1825-1830, 2004.

TOSHIMORI K. Biology of spermatozoa maturation: an overview with an introduction to this issue. **Microsc. Res. Tech.**, v. 61, n. 1, p. 1-6, 2003.

VALDEZ, N.F. Endotelina-1: vasoconstrictor intrínseco del endotélio vascular. **Rev. Med.**, v. 21, n. 2, p. 64-78, 2013.

VALLE, R.M.; ABREU, L.C.; PICARELLI, Z.P.; VALLE, J.R. Influence of castration upon trophism and reactivity of rat seminal vesicles. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 15, n. 1, p. 49-53, 1982.

VANHOUTTE, P. M.; SHIMOKAWA, H.; FELETOU, M.; TANG, E. H. Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. **Acta Physiol. (Oxf)**, v. 219, n. 1, p. 22-96. 2016.

XU, L.; FREEMAN, G.; COWLING, B.J. ; SCHOOLING, C.M. Testosterone therapy and cardiovascular events among men: a systematic review and meta-analysis of placebo-controlled randomized trials. **BMC Med.**, v. 11, n. 1, p.108, 2013.

YILMAZ, B.; CANPOLAT, S.; SANDAL, S.; AKPOLAT, N.; KUTLU, S.; IHLAN, N.; KELESTIMUR, H. Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat. **Reprod. Toxicol.**, v. 22, n. 4, p. 791-796, 2006.

YKI-JÄRVINEN, H.; BERGHOLM, R.; LEIRISALO-REPO, M. Increased inflammatory activity parallels increased basal nitric oxide production and blunted response to nitric oxide in vivo rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 62, n. 7, p. 630-634, 2003.

WANG, C.; SWERDLOFF, R.S.; IRANMANESH, A.; DOBS, A.; SNYDER, P.J.; CUNNIGAN, G.; MATSUMOTO, A.M.; WEBER, T.; BERMAN, N. Transdermal testosterone gel improves sexual function, mood, muscle strength, and body composition parameters in hypogonadal men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.85, n.8, p.2839-2853, 2000.

WHITE, R.M.; RIVERA, C.O.; DAVISON, C.A. Nitric oxide-dependent and -independent mechanisms account for gender differences in vasodilation to acetylcholine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 292, n. 1, p. 375-380, 2000.

WRUCK, C.J.; FRAGOULIS, A.; GURZYNSKI, A.; BRANDENBURG, L.O.; KAN, Y. W.; CHAN, K. et al. Role of oxidative stress in rheumatoid arthritis: insights from the Nrf2-knockout mice. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 70, n. 5, p. 844-850, 2011

ZIEMENS, B.; WALLASCHOFSKI, H.; VÖLZKE, H.; RETTIG, R.; DÖRR, M.; NAUCK, M.; KEEVIL, B.G.; BRABANT, G.; HARING, R. Positive association between testosterone, blood pressure, and hypertension in women: longitudinal findings from the Study of Health in Pomerania. **J. Hypertens.**, v. 31, n. 6, p.1106-13, 2013.