

# HIPERTENSÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL: PAPEL DO ESTRESSE OXIDATIVO

**DIOGO M.O. MARÇAL<sup>1</sup>**  
**ALISSON MARTINS-OLIVEIRA<sup>2</sup>.**

1. Farmacêutico-Bioquímico, Universidade Paulista (UNIP), Mestre em Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Farmacologia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Bandeirantes, 3900; Ribeirão Preto, SP, Brasil, 14049-900.
2. Farmacêutico-Bioquímico, Universidade Estadual de Goiás (UEG), Mestre em Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Farmacologia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Bandeirantes, 3900; Ribeirão Preto, SP, Brasil, 14049-900.

Autor responsável: D.M.O. Marçal. Email: diogonaja@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

As espécies reativas do oxigênio (EROs) tem um papel fisiopatológico importante no desenvolvimento da hipertensão. Neste sentido, a produção aumentada de radicais livres (estresse oxidativo) associada à diminuição na biodisponibilidade de NO (óxido nítrico) e dos mecanismos antioxidantes nos vasos sanguíneos, contribuem para a manutenção e progressão da hipertensão [Touyz, 2004].

A hipertensão arterial está também associada a um prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio. Isto é causado, principalmente, pelo excesso na produção de radicais livres, no qual podem reagir com o NO gerando intermediários reativos altamente deletérios para as células. Muitas evidências sugerem que o estresse oxidativo altera muitas funções do endotélio, incluindo a modulação do tônus vasomotor [Cai & Harrison, 2000]. Desta maneira, todos os efeitos benéficos e protetores do NO sobre a parede do vaso vão sendo gradativamente perdidos [Taddei et al., 2000]. Além disto, muitos estudos mostram que, o aumento na síntese de radicais livres na parede do vaso durante a hipertensão pode promover o remodelamento vascular e o aumento da resistência vascular periférica [Castro, 2008; Ceron, 2010; Marçal, 2011; Martinez, 2008].

Todos estes eventos são importantes no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, principalmente na hipertensão. Deste modo, as fontes de espécies reativas de oxigênio, assim como, as vias de sinalização que elas

modificam podem representar importantes alvos terapêuticos [Fortuno et al., 2005].

## OBJETIVOS

O intuito desta revisão é mencionar alguns aspectos referentes ao papel modulatório do endotélio no controle do tônus vascular via o óxido nítrico, bem como salientar a relevância das espécies reativas de oxigênio (EROs) como mediadores da disfunção vascular presente na hipertensão.

## MÉTODOS

Os artigos incluídos nesta revisão foram encontrados por meio de buscas em bancos de dados do PubMed. As palavras-chaves usadas foram: hipertensão, estresse oxidativo, disfunção endotelial, óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio.

## Hipertensão arterial: importante problema de saúde pública

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença cardiovascular comum, que afeta cerca de 50 milhões de pessoas, nos EUA, e um número proporcional a esse, no Brasil (V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arte-

rial, 2006). No entanto, segundo dados atuais das Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, no Brasil, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte. De fato, dados epidemiológicos brasileiros mostraram que em 2007 foram registrados por volta de 300.000 óbitos decorrentes de doenças do aparelho cardiovascular. Neste sentido, a hipertensão arterial, segundo inquéritos populacionais brasileiros, acomete em média 30% da população, cuja frequência é maior em homens (35,8%) do que em mulheres (30%) (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2010).

A HAS acomete cerca de um bilhão de pessoas no mundo, sendo que as doenças secundárias oriundas da hipertensão arterial são responsáveis por aproximadamente 7,1 milhões de mortes por ano e é considerado um grande problema de saúde pública no mundo [Chobanian et al., 2003].

Neste contexto, a HAS pode ser a causa de complicações cardiovasculares, como infarto e acidente vascular encefálico (AVE), bem como o resultado de outras complicações, tais como insuficiência renal, diabetes e a aterosclerose [Izzo, 1998].

A pressão arterial elevada provoca alterações nos vasos sanguíneos e hipertrofia do ventrículo esquerdo, bem como anormalidades no músculo liso vascular e endotélio associado a um comprometimento funcional destas estruturas [Verdecchia et al., 1998]. Dentre estas disfunções, podemos considerar o aumento da vasoconstrição e redução da vasodilatação arterial, tanto dependente quanto independente do endotélio. Desta maneira, a perda dos mecanismos que regulam tanto a contração quanto o relaxamento do músculo liso vascular é frequentemente citada como uma das causas do aumento do tônus vascular na hipertensão [Cohuet & Boudier, 2006].

O processo de instalação da hipertensão arterial depende tanto de componentes ambientais quanto hereditários, sendo atualmente classificada como uma doença poligênica e multifatorial, ligada a significativas alterações morfofuncionais no aparelho cardiovascular. Vários fatores como o estresse oxidativo [Escobales & Crespo, 2005; Lassegue & Griendling, 2004] e o aumento da atividade de algumas enzimas, como as metaloproteinases [Galis & Khatri., 2002; Raffetto & Khalil, 2006], podem estar relacionadas a alterações cardiovasculares observadas na hipertensão.

### **Disfunção vascular na hipertensão arterial: endotélio e inflamação**

O endotélio dos vasos sanguíneos é um importante modulador do tônus vascular via a síntese/liberação

de mediadores vasodilatadores tais como o óxido nítrico (NO) e a prostaciclina  $I_2$  ( $PGI_2$ ) e de agentes vasoconstritores como a endotelina-1 (ET-1). Em condições normais de pressão arterial, o endotélio induz a vasodilatação mediada por NO, e paralelamente impede a adesão de leucócitos circulantes e a agregação plaquetária [Savoia & Schiffrin, 2006]. Portanto, em qualquer situação que haja um prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio, causada por uma redução na biodisponibilidade de NO na parede do vaso, caracteriza-se assim um quadro de disfunção endotelial [Cai & Harrison, 2000].

O termo disfunção endotelial tem sido usado para se referir a muitas condições patológicas, incluindo modificações nas propriedades anticoagulantes e anti-inflamatórias do endotélio, prejuízo no controle do crescimento vascular e perda dos mecanismos de modulação do remodelamento vascular. Entretanto, em muitas literaturas, este termo tem sido usado para se referir ao dano no vasorelaxamento dependente do endotélio resultado da diminuição na biodisponibilidade de óxido nítrico [Cai & Harrison, 2000].

Deste modo, alguns dados têm mostrado que o declínio na biodisponibilidade de NO pode ser causado por uma diminuída expressão da sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS), uma falta de substrato ou cofatores para eNOS, alterações na sinalização celular fazendo com que a eNOS não seja ativada apropriadamente, ou até mesmo seja o resultado de uma degradação acelerada do NO pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) [Cai & Harrison, 2000].

Paralelamente, dados da literatura mostram que, a hipertensão induz a pronunciadas modificações funcionais, estruturais e mecânicas nas artérias resultando em redução da luz vascular e aumento da resistência vascular periférica. As alterações incluem o comprometimento do relaxamento vascular, que refletem em alterações no sistema de acoplamento excitação-contração muscular, modificações das propriedades elétricas das células da musculatura lisa vascular (CMLVs), bem como a disfunção endotelial [Touyz, Tabet; Schiffrin, 2003].

As principais alterações estruturais incluem o remodelamento vascular devido a hiperplasia e hipertrofia das CMLVs, aumento na migração celular e deposição de proteínas da matriz extracelular (MEC). As (CMLVs) são elementos centrais nesses eventos e tem um papel fundamental nos processos dinâmicos subjacentes às alterações vasculares na hipertensão [Touyz, Tabet; Schiffrin, 2003].

Além destas alterações, a lesão vascular na hipertensão envolve uma série de eventos moleculares e celulares coordenados, característico de uma reação inflamatória. De fato, evidências cada vez mais numerosas

indicam que, a doença vascular presente na hipertensão possa estar associada a um processo inflamatório leve, no entanto, de caráter crônico. Deste modo então, a inflamação juntamente com seus mediadores bioquímicos podem, por sua vez, desempenhar um papel significativo na fisiopatologia da hipertensão arterial, bem como, em suas complicações [Touyz, 2005].

Este conceito de que a hipertensão possa também ser resultante de um processo inflamatório vascular definitivamente tem mudado vários paradigmas referentes à etiologia da hipertensão. Sendo assim, os conhecimentos destes processos, possivelmente, podem levar à inserção de outras classes de medicamentos, que poderão ser adjuvantes a terapia anti-hipertensiva disponível [Touyz, 2005].

### **Estresse oxidativo: relevância na hipertensão e na disfunção vascular**

O estresse oxidativo pode ser definido como a oxidação de macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas, DNA, carboidratos, que ocorre quando a concentração de substâncias oxidantes supera a concentração de antioxidantes [Cai & Harrison, 2000]. Tais substâncias oxidantes são denominadas espécies reativas de oxigênio, e entre os mais importantes estão o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^-$ ) e peroxinitrito ( $ONNO^-$ ).

Na maioria das condições patológicas, as EROs são produzidas em quantidades excessivas. Desta maneira, este desvio no equilíbrio no sentido de formação de substâncias oxidantes, chamado estresse oxidativo tem importantes impactos na função celular e tecidual. Dentre estes temos a hipertrofia do músculo liso vascular, elevação na deposição de proteínas da matriz extracelular, aumento da contratilidade das CMLVs, inflamação, migração de monócitos, peroxidação lipídica, disfunção endotelial e apoptose [Kadoglou et al., 2005; Uemura et al., 2001]. Deste modo, tais alterações, podem contribuir para o desenvolvimento de diversos estados patológicos como a hipertensão, aterosclerose, diabetes [Cai & Harrison, 2000; Schulz et al., 2008].

As EROs são produzidas principalmente nas mitocôndrias e constituem produtos celulares prejudiciais, responsáveis por danos aos lipídeos, proteínas e ao DNA [Freeman & Crapo, 1982]. Entretanto, sabe-se que em concentrações fisiológicas, estas espécies reativas são essenciais em alguns processos de sinalização e regulação intracelular, e até mesmo nos mecanismos de transcrição gênica e síntese proteica [Griendling,

Srescu & Fukai, 2000]. Esta noção, por sua vez, baseia-se nos seguintes achados: (I) agonistas vasoativos e fatores de crescimento, como a angiotensina II (Ang II), são capazes de gerar EROs nas CMLVs via o receptor de angiotensina do tipo 1 ( $AT_1$ ), (II) antioxidantes e inibidores dos sistemas geradores de EROs podem suprimir vias de sinalização mediadas por alguns agonistas e (III) este cenário anterior pode ser revertido pela adição de substâncias oxidantes [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003].

Por outro lado, existem outras fontes enzimáticas produtoras de EROs tais como: a respiração mitocondrial, a degradação do ácido araquidônico via enzimas lipoxigenases e ciclooxigenases, o complexo enzimático do citocromo P450, a xantina oxidase, a NADPH oxidase e a eNOS desacoplada. Contudo, três dessas fontes tem sido mais estudada, no que se refere ao sistema cardiovascular: xantina oxidase, NADPH oxidase e a eNOS desacoplada [Cai & Harrison, 2000].

A xantina oxidase é uma importante enzima nas vias de degradação de purinas. A enzima gera como produto final, o ácido úrico (excretado pela urina) e um subproduto, o ânion superóxido [Wattanapitayakul & Bauer, 2001]. Praticamente todos os tipos de células vasculares produzem  $O_2^-$  (superóxido) e  $H_2O_2$  (peróxido de hidrogênio). Além disto, é importante ressaltar que, qualquer proteína ou enzima capaz de transferir elétrons pode auxiliar a formação de EROs.

A maior produtora de intermediários de oxigênio nos vasos é a NADPH oxidase vascular [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003]. Neste sentido, dados da literatura mostram que, durante a hipertensão a NADPH oxidase é considerada a principal responsável pela produção de  $O_2^-$ . A enzima apresenta múltiplas subunidades que são essenciais para sua atividade catalítica, como por exemplo,  $p47^{phox}$  e  $p22^{phox}$  [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2004; Lassegue & Clempus, 2003]. Contudo, sua atividade pode ser regulada por citocinas, hormônios e forças mecânicas que estão envolvidas na fisiopatologia de doenças vasculares [Cai & Harrison, 2000].

A NADPH oxidase vascular é constitutivamente ativa e fisiologicamente produz o ânion superóxido de maneira lenta e progressiva [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2004]. Deste modo, o aumento das concentrações de EROs nos vasos é um importante indício de uma atividade aumentada da NADPH oxidase vascular [Cai & Harrison, 2000; Keane, 2005; Zalba et al., 2001]. Complementariamente, durante a hipertensão arterial, a geração de  $O_2^-$  pode ser mediada por um sistema bem caracterizado, em que a Ang II via receptores  $AT_1$  de angiotensina estimula a NADPH oxidase das CMLVs [Touyz, Tabet &

Schiffrin, 2003]. Isto por sua vez, implica em geração de  $O_2^-$  em vários tipos de células vasculares, incluindo as células da musculatura lisa vascular (CMLVs), as células endoteliais e os fibroblastos [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003]. De fato, um dos primeiros estudos em modelos experimentais de hipertensão, que verificou a relação entre EROs e a hipertensão mostrou que a hipertensão induzida pela Ang II está associada ao aumento do estresse oxidativo e de fatores implicados no crescimento e remodelamento dos vasos sanguíneos [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003].

Além do exposto acima, a produção de radicais livres de oxigênio é balanceada por um eficiente sistema de antioxidantes, que são moléculas ou até mesmo sistemas enzimáticos capazes de removerem as EROs, prevenindo assim danos aos tecidos. Neste sentido, as enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GPX) e a catalase tem um importante papel na conversão de EROs em oxigênio e água. Vários outros antioxidantes não-enzimáticos são também importantes no controle das concentrações disponíveis dos radicais livres (vitamina C, vitamina E e glutatona) [Cai & Harrison, 2000].

Atualmente existem três tipos descritos de SOD, dependendo de sua localização celular: a SOD I ou citosólica, representada por Cu/Zn-SOD, a SOD II ou mitocondrial (Mn-SOD) e a SOD III ou extracelular (ecSOD). Todas são responsáveis pela remoção do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) dos vasos que por conseqüência reduzem a possibilidade de interação entre o  $O_2^-$  e o NO, no qual resulta na formação de um potente agente oxidativo, o peroxinitrito ( $OO\text{NO}^-$ ) [Touyz, 2004; Touyz, Tabet & Schiffrin, 2004].

### ***A eNOS desacoplada contribui para o estresse oxidativo durante a hipertensão***

A enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), fisiologicamente é responsável pela produção de NO. Durante a hipertensão, a eNOS pode também contribuir para a produção de  $O_2^-$  vascular. Isto ocorre em condições onde há baixas concentrações de L-arginina, seu substrato, ou do cofator tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ). Nesta situação, apontada acima, há uma mudança tridimensional na estrutura da eNOS, a qual confere a enzima uma nova conformação, que é assim denominado de estado de desacoplamento, ou seja, a eNOS perde a sua propriedade de sintetizar o óxido nítrico [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2004; Landmesser et al., 2003].

Neste sentido, um estudo sugere que o desacoplamento da eNOS *in vivo* pode ocorrer pela oxidação da te-

tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ), através da ação do  $OO\text{NO}^-$ , que é produto da reação do NO e  $O_2^-$  [Laursen et al., 2001]. Existem três mecanismos, que pelo menos em parte, explicam o aumento do estresse oxidativo gerado pelo desacoplamento da eNOS no endotélio: 1) a produção enzimática de NO pode estar diminuída, permitindo que radicais que normalmente reagiriam com NO ataquem outros alvos celulares 2) a eNOS começa a produzir  $O_2^-$ , contribuindo para o estresse oxidativo 3) além disso, outros dados sugerem que a eNOS possa se tornar parcialmente desacoplada, produzindo simultaneamente tanto  $O_2^-$  quanto NO e sob estas circunstâncias, a eNOS pode se tornar uma geradora de peroxinitrito, aumentando o estresse oxidativo.

A inativação do NO pelo ânion superóxido e por outras espécies reativas do oxigênio (EROs) parece ocorrer em condições como hipertensão, hipercolesterolemia e diabetes. A falta de NO associado a estes tradicionais fatores de risco de doenças cardiovasculares acima citados deve, ao menos em parte, explicar porque eles podem predispor a aterosclerose [Cai & Harrison, 2000].

Por outro lado, o aumento na biodisponibilidade de EROs vasculares levam ao aumento no crescimento celular, deposição de colágeno e alterações na atividade das metaloproteinases de matriz, fatores importantes no remodelamento arterial na hipertensão. Estas observações são compatíveis com alguns estudos no qual mostraram que o  $O_2^-$  e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) estimulam a hipertrofia e a proliferação de CMLVs [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003]. O aumento do  $O_2^-$  vascular na hipertensão também compromete o relaxamento dependente do endotélio e aumenta a atividade contrátil. Esses efeitos podem ser mediados diretamente pela elevação da concentração de  $Ca^{2+}$  no citossol ou indiretamente pela redução das concentrações do vasodilatador óxido nítrico [Touyz, Tabet & Schiffrin, 2003].

Portanto, no momento em que houver um conhecimento mais abrangente sobre os mecanismos e os sistemas enzimáticos envolvidos na síntese, e por conseqüência, nos alvos das EROs, talvez será possível lançar mão de medidas terapêuticas mais específicas com o intuito de prevenir a produção de EROs e corrigir a disfunção endotelial nas doenças cardiovasculares [Cai & Harrison, 2000].

## **CONCLUSÕES**

Atualmente é aceito que o estresse oxidativo é um importante mediador da doença vascular associada à hipertensão. De fato, elevadas concentrações de EROs tem

sido consistentemente encontradas em modelos animais de hipertensão, bem como na hipertensão clínica [Griendling & FitzGerald, 2003]. Sendo assim, estudos em modelos animais de hipertensão mostraram que, algumas drogas anti-hipertensivas podem melhorar ou até mesmo restaurar a vasodilatação dependente do endotélio. Isto se deve as suas propriedades em interferir possivelmente em mecanismos que restabelecem a função endotelial [Taddei et al., 2000]. Neste cenário, podemos citar as diidropiridinas bloqueadoras de canal de cálcio [Marçal, 2011; Martinez, 2008] e os diuréticos como a espironolactona e hidroclorotiazida [Ceron, 2010].

Apesar de existir evidências experimentais convincentes para a associação causal entre estresse oxidativo e a hipertensão, ainda não está bem definido se é a hipertensão ou o estresse oxidativo o evento primário neste processo. No entanto, o que está claro é que o estresse oxidativo, possivelmente a inflamação e a hipertensão se inter-relacionam, e que sua associação envolve um processo de amplificação, que resultam na progressão da hipertensão e em lesões de órgãos-alvo [Touyz, 2005].

Sendo assim, a intervenção em mecanismos intracelulares que controlem tanto a síntese e/ou liberação de mediadores vasodilatadores, quanto em sistemas biológicos responsáveis pela produção e remoção das EROs, poderão ser promissores alvos terapêuticos, que visarão, além de tudo, atenuar o dano causado pela hipertensão no aparelho cardiovascular [Tang & Vanhoutte, 2010]. Portanto, tais estratégias acima citadas, associadas a um conhecimento mais profundo da maquinaria envolvida no desenvolvimento da hipertensão, talvez nos norteiem, para novas perspectivas referentes ao controle e tratamento da hipertensão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Touyz, R.M., *Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance?* Hypertension, v.44, n.3, p. 248-52, 2004.
2. Cai, H., D.G. Harrison, *Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress.* Circ Res, v.87, n.10, p. 840-4, 2000.
3. Taddei, S., et al., *Antihypertensive drugs and reversing of endothelial dysfunction in hypertension.* Curr Hypertens Rep, v. 2, n.1, p. 64-70, 2000.
4. Castro, M.M., et al., *Metalloproteinase inhibition ameliorates hypertension and prevents vascular dysfunction and remodeling in renovascular hypertensive rats.* Atherosclerosis, v. 198, n.2, p. 320-31, 2008.
5. Ceron, C.S., et al., *Spironolactone and hydrochlorothiazide exert antioxidant effects and reduce vascular matrix metalloproteinase-2 activity and expression in a model of renovascular hypertension.* Br J Pharmacol, v. 160, n.1, p. 77-87, 2010.
6. Marçal, D.M., et al., *Comparative study on antioxidant effects and vascular matrix metalloproteinase-2 downregulation by dihydropyridines in renovascular hypertension.* Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, v. 383, n.1, p. 35-44, 2011.
7. Martinez, M.L., et al., *Lercanidipine decreases vascular matrix metalloproteinase-2 activity and protects against vascular dysfunction in diabetic rats.* Eur J Pharmacol, v. 599, n.1-3, p. 110-6, 2008.
8. Fortuno, A., et al., *Oxidative stress and vascular remodelling.* Exp Physiol, v. 90, n.4, p. 457-62, 2005.
9. Chobanian, A.V., et al., *The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report.* Jama, v. 289, n.19, p. 2560-72, 2003.
10. IZZO JL, B.H., *Hypertension Primer – The Essentials of High Blood Pressure. From the Council on High Blood Pressure Research.* American Heart Association v. 2, p.1-471, 1998.
11. Verdecchia, P., et al., *Prognostic significance of serial changes in left ventricular mass in essential hypertension.* Circulation, v. 97, n.1, p. 48-54, 1998.
12. Cohuet, G., H. Struijker-Boudier, *Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential.* Pharmacol Ther, v. 111, n.1, p. 81-98, 2006.
13. Escobales, N., M.J. Crespo, *Oxidative-nitrosative stress in hypertension.* Curr Vasc Pharmacol, v. 3, n.3, p. 231-46, 2005.
14. Lassegue, B., K.K. Griendling, *Reactive oxygen species in hypertension; An update.* Am J Hypertens, v. 17, n.9, p. 852-60, 2004.
15. Galis, Z.S. and J.J. Khatri, *Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly.* Circ Res, v. 90, n.3, p. 251-62, 2002.
16. Raffetto, J.D., R.A. Khalil, *Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease.* Biochem Pharmacol, v. 75, n.2, p. 346-59, 2008.
17. Savoia, C., E.L. Schiffrin, *Inhibition of the renin angiotensin system: implications for the endothelium.* Curr Diab Rep, v. 6, n.4, p. 274-8, 2006.
18. Touyz, R.M., F. Tabet, E.L. Schiffrin, *Redox-dependent signalling by angiotensin II and vascular remodelling in hypertension.* Clin Exp Pharmacol Physiol, v. 30, n.11, p. 860-6, 2003.
19. Touyz, R.M., *Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II.* Curr Opin Nephrol Hypertens, v. 14, n.2, p. 125-31, 2005.

20. Kadoglou, N.P., et al., *Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications*. *Angiology*, v. **56**, n.2, p. 173-89, 2005.
21. Uemura, S., et al., *Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity: role of oxidative stress*. *Circ Res*, v. **88**, n.12, p. 1291-8, 2001.
22. Schulz, E., et al., *Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension*. *Antioxid Redox Signal*, v. **10**, n.6, p. 1115-26, 2008.
23. Freeman, B.A., J.D. Crapo, *Biology of disease: free radicals and tissue injury*. *Lab Invest*, v. **47**, n.5, p. 412-26, 1982.
24. Griendling, K.K., D. Sorescu, M. Ushio-Fukai, *NAD, n.P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease*. *Circ Res*, v. **86**, n.5, p. 494-501, 2000.
25. Wattanapitayakul, S.K., J.A. Bauer, *Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications*. *Pharmacol Ther*, v. **89**, n.2, p. 187-206, 2001.
26. Touyz, R.M., E.L. Schiffrin, *Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension*. *Histochem Cell Biol*, v. **122**, n.4, p. 339-52, 2004.
27. Lassegue, B., R.E. Clempus, *Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. **285**, n.2, p. R277-97, 2003.
28. Keaney, J.F., Jr., *Oxidative stress and the vascular wall: NADPH oxidases take center stage*. *Circulation*, v. **112**, n.17, p. 2585-8, 2005.
29. Zalba, G., et al., *Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase*. *Hypertension*, v. **38**, n.6, p. 1395-9, 2001.
30. Landmesser, U., et al., *Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension*. *J Clin Invest*, v. **111**, n.8, p. 1201-9, 2003.
31. Laursen, J.B., et al., *Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin*. *Circulation*, v. **103**, n.9, p. 1282-8, 2001.
32. Griendling, K.K., G.A. FitzGerald, *Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies*. *Circulation*, v. **108**, n.17, p. 2034-40, 2003.
33. Tang, E.H., P.M. Vanhoutte, *Endothelial dysfunction: a strategic target in the treatment of hypertension?* *Pflugers Arch*, v. **459**, n.6, p. 995-1004, 2010.