



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA EM PÓS-GRADUAÇÃO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

ANA PAULA MENDES DA SILVA

Níveis séricos de Mediadores Inflamatórios da Resposta Imune na
gênese da Hipertensão Essencial

Uberaba/MG

2015

ANA PAULA MENDES DA SILVA

Níveis séricos de Mediadores Inflamatórios da Resposta Imune na gênese da
Hipertensão Essencial

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de concentração II: Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Virmondes Rodrigues Júnior

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Nazaré Pellizzetti Szymaniak

Uberaba/MG

2015

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

S578n Silva, Ana Paula Mendes da
Níveis séricos de mediadores inflamatórios da resposta imune na
gênese da hipertensão essencial / Ana Paula Mendes da Silva. --
2015.
52 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) -- Universidade
Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2015

Orientador: Prof. Dr. Virmondes Rodrigues Júnior

Coorientadora: Prof^ª Dr^a Nazaré Pellizzetti Szymaniak

1. Hipertensão. 2. Inflamação. 3. Mediadores da inflamação. I. Ro-
drigues Júnior, Virmondes. II. Universidade Federal do Triângulo Mi-
neiro. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

ANA PAULA MENDES DA SILVA

Níveis séricos de Mediadores Inflamatórios da Resposta Imune na gênese da
Hipertensão Essencial

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de concentração II: Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas.

Uberaba, 22 de Julho de 2015.

Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva

Coordenador do CPGCF/UFTM

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Virmondes Rodrigues Júnior - Orientador

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Roberto Vieira Botelho

Instituto do Coração do Triângulo - ICT

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado:

A Deus, Senhor meu, que em todos os momentos me atendeu, dando-me forças, disposição e alegria para conclusão deste trabalho.

A minha irmã Ana Márcia e ao meu irmão Paulo Humberto, foi pensando em vocês e nas muitas coisas que vivemos juntos, me mantive firme para conseguir.

Aos meus pais, Paulo Humberto e Adriana que me ensinaram ao seu modo, valores de vida fundamentais, pelo seu amor, dedicação e cuidado.

A minha avó paterna, Benedita Augusta da Silva, pelo amor, ensinamentos de vida, pelas orações feitas e preocupação com tudo que envolve a minha vida.

Ao meu tio Flávio Henrique, pelo incentivo recebido, por toda ajuda que me fez dedicar por inteiro e por acreditar sempre em mim.

A todos os pesquisadores, profissionais, alunos e pacientes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todos os seus feitos na minha vida, pelas portas que abriu me dando capacidade diária para conseguir, por fortalecer em mim a fé, a esperança e o equilíbrio.

A toda a minha família.

Ao meu namorado Daniel Lucas de Oliveira, agradeço pelo seu amor, carinho e paciência. Por me proporcionar tranquilidade para a conclusão final desta etapa.

Ao meu tio Dr. Marco Antônio Vieira da Silva pela admirável determinação, profissionalismo, pela oportunidade que tem me dado até hoje, por toda ajuda a mim e a meus irmãos.

À minha querida amiga e coorientadora, professora Dr.^a Nazaré Pellizzetti Szymaniak, de quem serei sempre admiradora, por todo incentivo e confiança, pela humildade, caráter e competência, pelo exemplo de mestre, pelas palavras de carinho, compreensão e cuidado como quem cuida de um filho.

Ao meu orientador, professor Dr. Virmondes Rodrigues Júnior pela oportunidade concedida, pela contribuição indispensável ao êxito desta caminhada, pelo exemplo de pessoa e de pesquisador ilustre.

Agradeço a todos os professores e colegas pela generosidade em compartilhar seu conhecimento e amizade.

Aos irmãos da Igreja Cristã Maranata, estar com vocês amenizou a ansiedade, dando-me equilíbrio mediante as dificuldades que envolveram minha vida no processo de conclusão deste trabalho, sou grata pelas orações e amizade.

À Universidade Federal do Triângulo Mineiro, onde obtive também minha formação, pela oportunidade ímpar na oferta do programa de mestrado, estimulando o desenvolvimento científico.

Às funcionárias do CPGCF e laboratório de Imunologia, Elizabeth e Betânia, pela disposição, paciência, boa vontade e auxílio em muitos momentos desta jornada.

Aos amigos e funcionários da Clínica de Diagnóstico Cardiológico, pelos bons momentos de convivência e amigos que fiz.

Ao erário público que através da Capes concedeu apoio financeiro.

*"Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio,
a minha fortaleza, e nele confiarei"*

Salmos 91:2

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada por uma persistente elevação dos níveis pressóricos arteriais para valores acima de 140 por 90 mmHg. Apresenta-se como uma doença crônico-degenerativa, multifatorial, comprometendo os sistemas vasodilatadores e vasoconstrictores. Tem como marcador hemodinâmico primário, o aumento persistente da resistência vascular periférica. Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo. Inquéritos populacionais em cidades brasileiras apontaram nos últimos 20 anos, uma prevalência de HAS acima de 30%. Supera outros fatores de risco cardiovasculares, tais como, tabagismo, hipercolesterolemia e obesidade. A PA elevada é o principal fator de risco único a nível mundial, sendo responsável por 9 milhões de mortes anuais. Alguns estudos reforçam o conceito de que esta doença tem base imunológica. O sistema imune representa um sistema eficaz de defesa contra microrganismos ou contra a transformação maligna de células. No início de 2000, uma série de investigações mostram que o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) e espécies reativas de oxigênio (ROS) são determinantes primordiais na lesão de órgãos-alvo induzida por angiotensina (ANG) II. A ANG II exerce diversas ações que contribuem para o dano vascular, modulando a libertação de citocinas e fatores de transcrição pró-inflamatórias, tais como NF- κ B. Os processos inflamatórios e apoptóticos podem induzir alterações na função cardíaca, na resistência vascular periférica, nos mecanismos de controle renal de eletrólitos e no volume plasmático. As moléculas inflamatórias e certas citocinas, são preditivos de eventos cardiovasculares futuros. Neste estudo, quantificou-se pelo método de ensaio imunoenzimático ELISA, os níveis séricos dos mediadores inflamatórios IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15, TNFRI, TNFRII e TRAIL em 24 pacientes com HE e 25 controles. Nenhum apresentou diabetes, tabagismo, obesidade ou hipercolesterolemia. As citocinas e os receptores solúveis do TNF- α não mostraram diferenças significativas entre o grupo hipertenso e o controle. Estes dados sugerem que os mediadores analisados não participam da gênese da hipertensão essencial.

Palavras-chave: Hipertensão essencial, inflamação, mediadores inflamatórios.

ABSTRACT

Systemic hypertension (SH) is characterized by a persistently elevated blood pressure levels to values above 140 by 90 mmHg. It presents as a chronic degenerative disease, multifactorial, compromising the vasodilator and vasoconstrictor systems. Its primary hemodynamic marker is the persistent increase in peripheral vascular resistance. Is frequently associated with functional and/or structural changes in target organs. In the last 20 years, population surveys in Brazilian cities showed the prevalence of hypertension above 30%. Outperforms other cardiovascular risk factors such as smoking, hypercholesterolemia and obesity. The high BP is the main factor of risk worldwide, accounting for 9 million deaths. Some studies support the concept that this disease has immunological basis. The immune system (SI) is an effective system of defense against microorganisms or against the malignant transformation of cells. In early 2000, a series of investigations showing that the nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B) and reactive oxygen species are paramount in determining lesion of target organs induced by angiotensin II. The ANG II exerts various actions that contribute to vascular damage, modulating the release of cytokines and pro-inflammatory transcription factors such as NF- κ B. The inflammatory and apoptotic processes can induce changes in cardiac function, in the peripheral vascular resistance, in the mechanisms of the kidneys and in plasma volume. The inflammatory molecules and certain cytokines are predictive for future cardiovascular events. In this study we quantified, by enzyme immune assay, the serum levels of inflammatory mediators and TNF receptor family (IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15, TNFR1, TNFR2 and TRAIL) in 24 patients with SAH and 25 controls. Risk factors such as diabetes, smoking, obesity and hypercholesterolemia were criteria of exclusion. Cytokines and soluble TNF- α receptors showed no significant differences between the hypertensive group and controls. These data suggest that the analyzed mediators do not participate in the genesis in the onset essential hypertension.

Keywords: Essential hypertension, inflammation, inflammatory mediators.

SUMÁRIO

1 Introdução	12
1.2 Hipertensão Arterial Sistêmica.....	12
1.2.1 Fisiopatologia, diagnóstico e controle.....	14
1.3 Sistema Imune na Hipertensão Essencial.....	16
1.3.1 Sistema imune inato e adaptativo.....	18
1.3.2 Marcadores Inflamatórios na Hipertensão.....	21
1.4 Lesões de órgãos-alvo	24
2 Referências.....	28
3 Artigo em Inglês.....	37

Lista de Siglas e Abreviaturas

ANG II	Angiotensina II
APCs	Células apresentadoras de antígeno
AP-1	Proteína ativadora 1 (Fator de transcrição nuclear)
AT1	Receptor 1 de angiotensina II
AVE	Acidente vascular encefálico
CD4+	Proteína de superfície expressa em linfócitos T auxiliares
CD8+	Proteína de superfície expressa em linfócitos T citotóxicos
DAC	Doença arterial coronariana
DCs	Células dendríticas
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCVs	Doenças cardiovasculares
eNOS	Enzima óxido nítrico sintetase endotelial
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IL-15	Interleucina 15
kDa	Quilodalton
M-CSF	Fator estimulador de colônia de monócitos
NF-κB	Fator de transcrição nuclear kappa B
NK	Células natural killer
NLR	Receptores do tipo NOD
NOX	NADPH-oxidase
Nrf2	Fator de transcrição nuclear eritróide relacionado ao fator 2
O₂⁻	Ânion superóxido
OMS	Organização mundial da saúde
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SHR	“Spontaneously Hypertensive Rats” – ratos espontaneamente hipertensos
SI	Sistema imune
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNP	Sistema nervoso parassimpático
SNS	Sistema nervoso simpático
TLR	Receptor do tipo Toll
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa
TNFR1	Receptor do fator de necrose tumoral tipo I
TNFR2	Receptor do fator de necrose tumoral tipo II
TRAIL	Fator de necrose tumoral-alfa relacionado ao ligante indutor de apoptose
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
WKY	Wistar-Kyoto

1 INTRODUÇÃO

1.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A hipertensão arterial sistêmica (HAS), caracterizada por níveis elevados e sustentados da pressão arterial (PA), apresenta-se como uma doença crônico-degenerativa, multifatorial, na maioria das vezes assintomática, de evolução lenta e progressiva, comprometendo os sistemas vasodilatadores e vasoconstrictores. Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos chamados órgãos-alvo, como o coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos. Tem como marcador hemodinâmico primário, o aumento persistente da resistência vascular periférica (LENFANT et al., 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2006; MALTA et al., 2009; WILLIAMS, 2010).

A PA elevada apresenta uma relação direta na incidência de vários eventos cardiovasculares, entre esses, acidente vascular encefálico (AVE), infarto agudo do miocárdio (IAM), morte súbita, insuficiência cardíaca congestiva, doença arterial periférica, e doença renal terminal. Representa um fator de risco para IAM, AVE e insuficiência cardíaca (LENFANT et al., 2003). De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia, a HAS está associada a 54% dos casos de AVE e 47% dos casos de doenças isquêmicas do miocárdio (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

Inquéritos populacionais em cidades brasileiras apontaram nos últimos 20 anos, uma prevalência de HAS acima de 30% (CESARINO, 2008; ROSÁRIO et al., 2009). Varia entre 22% e 44% para adultos, chegando acima de 50% para indivíduos entre 60 a 69 anos e 75% em idosos acima de 70 anos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). A HAS surge como um grave problema de saúde pública, sendo um fator de risco de alta prevalência. No Brasil, as doenças cardiovasculares respondem como uma das principais causas de internações hospitalares e cerca de um terço dos óbitos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A HAS ocorre em todas as idades e grupos étnicos. Gera profundo impacto na morbimortalidade dos indivíduos em populações mundialmente definidas (LEWINGTON et al. 2002; BRITTON; GAZIANO; DJOUSSE, 2009; KALAITZIDIS;

BAKRIS, 2010). Na análise de risco de morbimortalidade unificada, a Organização Mundial de Saúde (OMS) identificou a HAS como a principal causa de morte, onde pelo menos, 600 milhões de pessoas são hipertensas mundialmente. Supera outros fatores de risco cardiovasculares, tais como, tabagismo, hipercolesterolemia e obesidade (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2013).

Por duas décadas tem sido realizado um estudo abrangente de carga de doença global para quantificar a perda de saúde decorrente de doenças, lesões e fatores de risco. Um esforço colaborativo com pesquisadores de cinquenta países na intenção de criar um bem público global. Por uma avaliação comparativa de risco, o estudo incorpora tanto a prevalência de um determinado fator de risco quanto o dano relativo causado por ele. Na última avaliação do *Global Burden of Disease Study*, publicado em *The Lancet* em dezembro de 2012, concluiu-se que a PA elevada é o principal fator de risco único a nível mundial, sendo responsável por 9 milhões mortes (LANCET et al., 2014).

A OMS evidencia no grupo das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), as cerebrovasculares, cardiovasculares, renovasculares, neoplasias, as respiratórias e o diabetes mellitus. Caracteristicamente são de longa duração e progressão lenta, afetam países de baixa e média renda salarial, onde ocorrem aproximadamente 36 milhões de mortes por ano. As doenças cardiovasculares são responsáveis pela maioria das mortes por DCNT sendo 17,3 milhões de óbitos por ano (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2013). O principal fator de risco no rol das DCNT é a elevada PA, à qual 16,5% das mortes no mundo são atribuídas (LIM et al., 2010).

No contexto das DCNT, a HAS é caracterizada por uma persistente elevação dos níveis pressóricos arteriais para valores acima de 140/90 mmHg. Com base nas evidências de ensaios clínicos randomizados, pacientes com estes valores tem indicação de tratamento, tendo em vista a redução da PA (LURBE et al., 2009). No entanto, 14 estudos populacionais brasileiros realizados nos últimos quinze anos com 14.783 indivíduos hipertensos, revelaram (19,6%) baixos níveis de controle da PA (JARDIM, 2007; ROSÁRIO et al., 2009).

1.2.1 FISIOPATOLOGIA, DIAGNÓSTICO E CONTROLE

As modificações no estilo de vida ao longo dos anos, e alterações no perfil de morbimortalidade da população mundial evidenciam o aumento da doença arterial coronariana (DAC), considerada um dos maiores desafios da saúde pública, com todas as implicações econômicas e sociais (BASTOS et al., 2009).

A pressão, definida como força por unidade de área, é uma entidade física. A PA, portanto, depende de fatores físicos, como o volume sanguíneo e a capacitância da circulação. É um atributo básico para o bom funcionamento do sistema circulatório a manutenção da PA em patamares satisfatórios e razoavelmente constantes. É essencial para a homeostase e sobrevivência do organismo, especialmente para perfundir, conseqüentemente, nutrir e oxigenar os tecidos, sem lesá-los. A PA sistêmica é resultante da combinação instantânea do débito cardíaco (frequência cardíaca x volume sistólico) e da resistência vascular periférica, sendo estes parâmetros determinantes primários, modulados por diversos mecanismos. Alguns desses mecanismos homeostáticos mais estudados são o sistema nervoso autonômico (SNA), o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o sistema L-arginina-enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS), dentre outros (BEEVERS et al., 2001).

A PA é determinada pelo tônus do sistema nervoso simpático (SNS) e do sistema nervoso parassimpático (SNP). Modifica-se acentuadamente, numa faixa estreita de variação, devido à interação de complexos mecanismos que mantêm a pressão dentro da normalidade. (CONWAY et al., 1984). Estudos utilizando medidas de PA contínuas têm documentado que as leituras realizadas em qualquer dia podem ser marcadas, em que a PA diminui durante o sono, condizente com a diminuição do tônus simpático. (BEVAN; HONOUR; STOTT, 1969; RICHARDSON et al., 1964).

Embora não seja marcada a labilidade do normotenso, a maioria das autoridades no assunto definiu a HAS como a pressão arterial sistólica (PAS) \geq 140 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) \geq 90 mmHg (FEIG, JOHNSON, 2003). Na prática, os respectivos valores são universalmente utilizados, tanto para simplificar a abordagem diagnóstica quanto para facilitar a decisão terapêutica (LURBE et al., 2009).

A aferição da PA durante a consulta médica tem sido a chave para o diagnóstico e tratamento da HAS. Esta medida requer a aplicação de um método preciso em medidas de consultório, validado por medidas repetidas, em condições ideais, em, pelo menos, três ocasiões. Na maioria das consultas, realiza-se uma medida isolada que pode não ser representativa, do real valor da PA do paciente (O'BRIEN et al., 2003). Pequenos desvios de 5-10 mmHg são comuns quando o ambiente, a atitude do profissional ou paciente sofrem pequenas variações, influenciando na medição da PA. Esse valor superestimando pode levar a um tratamento medicamentoso inadequado, com conseqüente exposição aos efeitos colaterais, e custos desnecessários (JONES et al., 2003).

Na vigência de minimizar diagnósticos errôneos da HAS, “há a necessidade de obtenção de medidas da PA por meio de outros métodos capazes de abstrair esses erros e criar condições que propiciem uma medida de pressão arterial que reflita, com segurança e fidelidade, o seu real comportamento” (V Diretrizes de Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA) e III Diretrizes de Monitorização Residencial da Pressão Arterial (MRPA), 2011, p.1). A monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) é, portanto, uma ferramenta diagnóstica e terapêutica útil, que utilizada durante 24 horas torna possível à realização de várias medidas da PA durante a atividade diária de um indivíduo. No melhor cenário possível, a PA medida durante a consulta é a média de 2 a 3 medições, enquanto os protocolos habituais da MAPA, constam com valores médios de 60 a 70 medidas, além de informações adicionais sobre o padrão circadiano, elevação da PA ao acordar, variações de pressão durante 24 horas, sua relação com a medicação, carga de tensão, evolução da frequência cardíaca. A reprodutibilidade dos valores de PA obtidos pela MAPA é maior do que os obtidos durante a consulta, e apresenta melhor correlação com lesões de órgãos-alvo do que a medição clínica isolada (BAKRIS et al., 2000).

1.3 SISTEMA IMUNE NA HIPERTENSÃO ESSENCIAL

O sistema imune (SI) é caracterizado biologicamente pela capacidade de reconhecer determinados antígenos ou estruturas moleculares e desenvolver resposta efetora quando estimulado. Esse fato provoca a destruição ou inativação das estruturas não próprias, até mesmo substâncias estranhas não-infecciosas podem desencadear uma resposta imunológica. Esse sistema constitui-se em uma complexa rede de células e moléculas dispersas no organismo. Representa um sistema eficaz de defesa contra microrganismos ou contra a transformação maligna de células. Esta capacidade de defesa do SI se fundamenta na ativação das células efectoras - que incluem os linfócitos e as células apresentadoras de antígenos (APCs) ou acessórias - e na produção de anticorpos. A geração inadequada destas respostas efectoras produz efeitos deletérios para o organismo, provocando reações inflamatórias e dano orgânico em maior ou menor intensidade (PRIETO et al., 1997a; PRIETO et al., 1997b).

A inflamação, sendo um mecanismo de defesa do SI, é um processo biológico complexo mediado por citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão intercelular que envolve componente vasculares, celulares e uma diversidade de substâncias solúveis que podem implicar no desenvolvimento e manutenção da HAS, tanto em pacientes, quanto em modelos experimentais hipertensos dependentes de angiotensina (HARRISON et al., 2011; BUTCHI et al., 2008). A HAS tem grande incidência na população mundial, porém, a sua causa, na maioria dos adultos é desconhecida. Alguns estudos reforçam o conceito de que esta doença tem base imunológica (HARRISON et al., 2011).

O conceito de que o SI contribui para a HAS teve sua gênese na década de 1960, quando Grollman e colaboradores (OKUDA; GROLLMAN, 1967; SVENDSEN, 1976) demonstraram que a transferência de linfócitos a partir de ratos espontaneamente hipertensos – “Spontaneously Hypertensive Rats” - SHR), induzia infarto renal em animais previamente normotensos. Posteriormente, Svenson e colaboradores descobriram que a HAS não foi mantida em ratos timectomizados com infarto renal (SVENDSEN, 1976). Na década de 1980, Ba e colaboradores verificaram que o transplante de timo de um rato Wistar-Kyoto (WKY) para um SHR resultou na diminuição da PA em SHR (BA D et al., 1982). Houve também redução da PA em

SHRs tratados com soro anti-timócitos ou com um fármaco imunossupressor, a ciclofosfamida (BENDICH; BELISLE; STRAUSSER, 1981; DZIELAK, 1991). Rodruiguez-Iturbe e colaboradores constataram imunossupressão em hipertensos induzidos pelo uso de Micofenolato de mofetil, cujo efeito foi revertido após a infusão de angiotensina II (ANG II) (RODRIGUEZ-ITURBE et al., 2001).

No início de 2000, Muller e Luft (MULLER et al., 2000) realizaram uma série de investigações mostrando que o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB) e espécies reativas de oxigênio (ROS) são determinantes primordiais na lesão de órgãos-alvo induzida por ANG II. O embasamento de estudos sobre a HAS, e modelos experimentais SHR que desenvolvem a hipertensão à medida que envelhecem, são bem aceitos, e têm preparado o caminho para descobertas que podem levar a maior compreensão da importância do SI na hipertensão essencial (TROTT, HARRISON, 2014).

O uso de modelos experimentais tem contribuído expressivamente na busca de esclarecimentos acerca da fisiopatologia da hipertensão essencial (FAZAN et al., 2001). Neste contexto, merece destaque o modelo de hipertensão espontânea em ratos - SHR. Desenvolvido originalmente a partir de endo-cruzamentos seletivos de ratos da linhagem Wistar desde 1963 em Kyoto, no Japão (OKAMOTO, AOKI, 1963). É o modelo genético de hipertensão mais estudado na literatura pertinente. Sua importância tem sido creditada à similaridade da sua fisiopatogenia com a hipertensão essencial humana (LOSS, 2011).

Os SHR iniciam o desenvolvimento da hipertensão essencial com aproximadamente cinco semanas de idade, apresentando níveis tensionais hipertensivos entre a sétima e a décima quinta semanas (YAMORI, 1994). Os mecanismos associados aos níveis tensionais elevados são decorrentes de uma considerável elevação na resistência periférica total acompanhada de um débito cardíaco normal ou reduzido e em alguns casos uma progressiva hipertrofia cardíaca (POTTS, MCKEOWN, SHOUKAS, 1998; FAZAN et al., 2001). Um dos fatores de influência na elevação da resistência periférica nos SHR é a hiperatividade simpática (JUDY et al., 1976).

Outra marcante característica do modelo experimental de SHR é a acentuada disfunção endotelial, principalmente pela deprimida vasodilatação dependente de endotélio e reduzida biodisponibilidade do óxido nítrico (NO). Decorre,

provavelmente, do estresse oxidativo endotelial excessivamente elevado. A disfunção endotelial observada no SHR, também está diretamente implicada na elevação da resistência periférica total e na lesão crônica de órgãos-alvo (MCINTYRE; BOHR; DOMINICZAK, 1999; TOUYZ, 2004).

Em adição, mas, indiretamente associada à própria disfunção endotelial, uma interessante característica dos animais SHR é a rarefação microvascular, que resulta em perda significativa de vasos arteriolares e capilares. (PREWITT, CHEN, DOWELL, 1982; LE NOBLE et al., 1990; LE NOBLE et al., 1998, LEVY et al., 2001).

Esta rarefação microvascular foi demonstrada em pacientes hipertensos essenciais, reforçando as similaridades entre os SHR e os humanos na hipertensão essencial humana (SULLIVAN, PREWITT, JOSEPHS, 1983; NOON et al., 1997).

1.3.1 SISTEMA IMUNE INATO E ADAPTATIVO

Comumente, bactérias, vírus ou antígenos tumorais ativam os mecanismos de defesa imunológica (CRUVINEL, 2010). Classicamente o SI é direcionado para dois lados interdependentes a imunidade inata e adaptativa. A imunidade inata é a primeira linha de defesa contra agentes patogênicos direcionando uma resposta rápida e estereotipada. Reage a grande número de estímulos e provoca o seu efeito através de um número limitado de mediadores (HARRISON, 2011). Essa defesa é ampla e reage a um padrão molecular associado a patógenos.

Os principais componentes efetores deste sistema incluem células epiteliais, fagócitos profissionais (neutrófilos, macrófagos), células dendríticas (DCs), que são as APCs e as células natural killer (NK). Estão integrados na resposta imune inata também o sistema complemento e os receptores de reconhecimento de padrões moleculares, tais como os receptores do tipo Toll (TLRs) e receptores do tipo NOD (NLRs). Outros componentes fundamentais são as ROS e espécies reativas de nitrogênio (NOS). Os principais processos em que a imunidade inata exerce os seus efeitos são a fagocitose, a ativação de proteínas do sistema de complemento, a liberação de mediadores inflamatórios e a síntese de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas (HARRISON, 2011).

Em contraste com o SI inato, o SI adaptativo é altamente específico e protagonizado pelos linfócitos T e B. São aqui resumidos os aspectos clássicos desta resposta. O conceito tradicional sobre imunidade adaptativa é que as APCs reconhecem antígenos em tecidos periféricos, tais como os de bactérias e vírus, e processam em peptídeos curtos apresentados no complexo de histocompatibilidade principal (MHC). A ativação dos linfócitos TCD4+, para que se tornem efetores, é predominantemente mediada por DCs (VINAY; KWON, 2009). Além das DCs, outras que efetivamente apresentam antígenos, incluem macrófagos ativados, células B e as endoteliais ativadas, que particularmente são relevantes para a biologia cardiovascular (POBER; KLUGER; SCHECHNER, 2001; GELIN et al., 2009).

As DCs são uma ponte entre a imunidade inata e adaptativa por serem as principais células apresentadoras de antígenos aos linfócitos TCD4+. Elas residem em tecidos periféricos, como pele, fígado e intestino, onde capturam antígenos e se tornam ativadas, migrando para os linfonodos regionais, nos quais processam e apresentam antígenos protéicos ou lipídicos (BANCHEREAU et al., 2000). Ao encontrar uma célula T, cujo receptor (TCR) é capaz de reconhecer o peptídeo antigênico via MHC II, ocorre a ativação. Como resultado da ligação do TCR e da co-estimulação, as células T proliferam, produzem citocinas e alteram a expressão dos receptores de superfície que conduzem sua saída dos órgãos linfóides secundários, em migração para locais de inflamação periférica. As células TCD4+ auxiliares, também se ligam às células B, promovendo a formação de anticorpos. Em contraste com as células TCD4+, as células TCD8+, conhecidas como células T citotóxicas são ativadas, produzem moléculas como a perforina e granzimas, que causam a morte de células adjacentes invadidas por microorganismos. Tais como as células CD4+, células CD8+ também podem produzir citocinas que contribuem para diversos processos patológicos (HARRISON et al., 2011).

O envolvimento da inflamação na HAS é atribuído a diversos fatores como ANG II, citocinas, aldosterona e alterações mecânicas, que estimulam enzimas como NADPH oxidase (NOX) e NO sintase a produzir ROS e NOS. Por sua vez, ROS ativam fatores de transcrição, como por exemplo, o NF- κ B, que modula a expressão de moléculas de adesão e quimiocinas as quais levam ao acúmulo de células inflamatórias nos tecidos. Essas células inflamatórias como as células T, macrófagos e monócitos secretam citocinas, e podem liberar ROS, amplificando o ambiente

inflamatório. Os receptores do tipo TLR são relevantes para doenças cardiovasculares, por causarem mudanças na sinalização celular. Como exemplo, temos as lipoproteínas oxidadas, que compartilham semelhanças com algumas proteínas da superfície bacteriana ativando TLR4, que por sua vez sinaliza uma variedade de respostas inflamatórias (CRUVINEL, 2010).

Os macrófagos têm a capacidade de secretar diversas citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF)- α , que em última instância, pode influenciar a inflamação vascular. Dependendo do seu fenótipo, os macrófagos liberam ROS, metaloproteinases da matriz e citocinas que provocam danos teciduais, que por sua vez induzem à remodelação vascular, vasoconstrição e lesão renal. O fator estimulador de colônias de monócitos (M-CSF) funciona como fator quimiotático de monócitos, regulador das funções efetoras de monócitos maduros e macrófagos, modulando a resposta inflamatória pela estimulação da produção de outras citocinas, moléculas de adesão e fatores de crescimento (STANLEY et al., 1983; WANG et al. 1988).

Em um estudo, a deficiência nos macrófagos, resultado de uma mutação no gene M-CSF, causa monocitopenia e formação de osso defeituoso (YOSHIDA et al., 1990; WIKTOR-JEDRZEJCZAK et al., 1990; LIESCHKE et al., 1994). No entanto, continua indeterminado se a redução no número de macrófagos como resultado da mutação osteopetrófica confere alguma proteção microvascular na HAS. Estes ratos podem representar um bom modelo para entender melhor os mecanismos que levam à lesão vascular mediada pelo estresse oxidativo e inflamação na hipertensão essencial associada à ativação do sistema renina-angiotensina (TOUYZ, SCHIFFRIN, 2000).

A ANG II exerce diversas ações pleiotrópicas que contribuem para o dano vascular (TOUYZ, SCHIFFRIN, 2000), modulando a liberação de citocinas (SCHIEFFER et al., 2000) e fatores de transcrição pró-inflamatórios, como NF- κ B (HERNANDEZ-PRESA et al., 1997). Este regula a expressão da molécula de adesão vascular -1 (VCAM -1) e da molécula de adesão intercelular -1 (ICAM-1) (PUEYO et al., 2000). Todos podem induzir inflamação dentro da parede vascular, deposição de matriz extracelular, além de hipertrofia e/ou hiperplasia de células do músculo liso vascular (TOUYZ, SCHIFFRIN, 2000).

Nesse cenário, ROS agem como moléculas de sinalização modulando o tônus vascular ocasionando mudanças estruturais na microcirculação, (TOUYZ, TABET, SCHIFFRIN, 2003) bem como o desenvolvimento e progressão da aterosclerose. (SCHIEFFER et al., 2000) A NOX é a principal produtora de ROS vascular expresso em células endoteliais, células do músculo liso vascular, fibroblastos, monócitos e macrófagos (HERNANDEZ-PRESA et al., 1997, PUEYO et al., 2000). Agentes humorais tais como a ANG II ou endotelina-1, e mediadores inflamatórios, podem modular a geração de superóxido basal ($O_2^{\cdot -}$), bem como a expressão e atividade da NOX (TOUYZ, TABET, SCHIFFRIN, 2003).

A perfusão crônica de ANG II aumenta a porcentagem de células T na circulação e marcadores de ativação de células T efetoras. Os linfócitos T, componentes do sistema imune adaptativo, também estão diretamente implicados no desenvolvimento da hipertensão. Assim como muitos estímulos inflamatórios, a HAS atua por meio de vários mecanismos para ativação das células T, como por exemplo, aumento da expressão de moléculas de adesão e quimiocinas nas células-alvo para a entrada tecidual das células inflamatórias ativadas (TAKEDA, AKIRA, 2005; FISCHER, EHLERS, 2008).

1.3.2 MARCADORES INFLAMATÓRIOS NA HIPERTENSÃO

Um mecanismo provável através do qual o SI pode contribuir para a HAS é através da liberação de citocinas, as quais promovem a inflamação em vários órgãos-alvo de controle da pressão sanguínea (HARRISON, VINH, LOB, MADHUR, 2010).

As citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas extracelulares, hidrossolúveis, variando entre 8 e 30 kDa, produzidas por diversos tipos de células. Não sendo armazenadas como moléculas pré-formadas, atuam especialmente por mecanismos parácrino, autócrino ou endócrinos podendo uma mesma citocina ser produzida por vários tipos de células, assim como atuar em diferentes tecidos (LIN, CALVANO, LOWRY, 2000; SOMMER, WHITE, 2010). Ações semelhantes podem ser desencadeadas por diferentes citocinas, muitas das vezes provocando um efeito cascata (ZHANG, NA, 2007).

Essas substâncias se ligam a receptores específicos, ativando mensageiros intracelulares que regulam a transcrição gênica. Dessa forma, as citocinas influenciam a atividade, diferenciação, proliferação e sobrevivência da célula imunológica, podendo atuar como pró ou anti-inflamatórias de acordo com o microambiente no qual estão localizadas. São consideradas pró-inflamatórias, IL-1, IL-2, IL-6, IL-7 e TNF. As anti-inflamatórias podem ser a IL-4, IL-10, IL-13 e TGF- β (CURFS, MEIS, HOOBKAMP-KORSTANJE, 1997; SOMMER, WHITE, 2010).

Estudos que examinaram a parede vascular de SHR, descobriram um aumento nos níveis da expressão de IL-6, IL-1 β e TNF- α (SUN, GAO, TIAN, 2006). A IL-1 β e a ANG II em conjunto, podem regular a atividade do SNS modulando a expressão de NO cerebral (YE, MOZAYENI, GAMBURD, ZHONG, 2000; CAMPESE CAMPESE, SHAOHUA, ZHONG, 2002; BARBIERI ET AL., 2003). A IL-1 β também pode ser um fator de risco adicional para a aterogênese em pacientes hipertensos (DALEKOS, ELISAF, BAIRAKTARI, TSOLAS, SIAMOPOULOS, 1997).

A aterogênese é um processo patológico causado pelo espessamento da parede arterial devido à formação de placas ateroscleróticas e agregados inflamatórias resultantes de lesão endotelial. Alguns mecanismos envolvidos na aterogênese são a retenção de lipoproteínas, ativação de células endoteliais, proliferação de células do músculo liso vascular, infiltração de macrófagos, lesão proteolítica, neovascularização e apoptose. A aterosclerose deve ser considerada uma doença inflamatória (ROSS, 1999), uma vez que as placas contêm um núcleo lipídico coberto por uma cobertura fibrosa. Alguns mecanismos envolvidos na aterogênese relacionam-se a membros da família TNF, como o TRAIL, e têm sido detectados em placas ateroscleróticas humanas (SECCHIERO et al., 2005).

O TRAIL é uma molécula da superfamília do TNF cuja ligação e ativação resultam na indução de apoptose. Induz apoptose em tumores, células transformadas ou células infectadas. Algumas evidências mostraram o envolvimento de TRAIL na regulação de vários processos fisiopatológicos da imunidade inata e adaptativa não limitando-se à apoptose induzida em células transformadas. Estudos em camundongos *knockout* para TRAIL demonstraram que estes são mais susceptíveis a metástases tumorais, indicando a atuação de TRAIL na regulação imunológica e

defesa do hospedeiro contra a gênese e progressão tumoral (CRETNEY et al., 2002; SEDGER, 2002)

A expressão de TRAIL em células T durante a estimulação antigénica sugere que este medeia a morte celular induzida pelo antígeno com capacidade para transduzir um sinal apoptótico. Essa transdução ocorre após ligação a receptores de superfície específicos em células com domínios de morte intracitoplasmáticos. Estudos identificaram a presença de dois receptores de TRAIL com sinalização diferentes, que não possuem domínios de morte funcionais (BERK; FRANZBLAU; GOLDSTEIN, 1991; DEGLI-ESPOSTI et al., 1997; MACH et al., 1997). Estes receptores são amplamente expressos em todos os tipos de células inflamatórias e em vários órgãos linfóides e não linfóides (PAN et al., 1997; SCHULZE-OSTHOFF et al., 1998).

Estudos *in vitro*, mostraram que TRAIL reduziu significativamente a adesão leucocitária em células endoteliais por regulação da expressão de quimiocinas CCL8 e CXCL10 (SECCHIERO et al., 2005). Estudos *in vivo*, demonstraram uma redução na extensão da placa aterosclerótica aórtica, possivelmente por induzir a apoptose de macrófagos (SECCHIERO et al., 2005), e de acordo com esta conclusão, Di Bartolo e colaboradores relataram uma redução no acúmulo de macrófagos em placas ateroscleróticas de camundongos *knockout* para TRAIL (DI BARTOLO; CHAN; BENNETT et al., 2011). Sendo assim, TRAIL pode ter potencial para determinação de valor preditivo em lesões ateroscleróticas.

Outra citocina com potencial para imunorreatividade em placas ateroscleróticas é a IL-15. Uma citocina pleiotrópica com ampla gama de funções biológicas sendo produzida em vários tecidos (placenta, músculo esquelético, rim, pulmão e coração) e por células como monócitos, macrófagos (GRABSTEIN et al., 1994) e numerosos tipos celulares em várias condições de estímulo (DOHERTY; SEDER; SHER, 1996; BLAUVELT et al., 1996; JONULEIT et al., 1997; MURRAY; SIMM; BEAGLEY, 1998; KAWAI et al., 1998; WEILER; ROGASHEV; EINBINDER, 1998).

Os primeiros tipos celulares a serem implicados como fonte relevante de IL-15 no contexto de uma resposta imune são os da linhagem de monócitos e macrófagos (CARSON et al., 1995; DOHERTY; SEDER; SHER, 1996) Outras APCs, tais como DCs, mostraram-se produtoras de IL-15, RNAm e proteínas, sugerindo participação

na atração e estimulação de células T (BLAUVELT et al., 1996; JONULEIT et al., 1997).

Um aumento nos níveis séricos de IL-15 foram observados em pacientes com doenças cardiovasculares. Estudos indicaram que a IL-15 é expressa por células inflamatórias localizadas em placas ateroscleróticas vulneráveis (HOUTKAMP et al., 2001) e sua concentração sérica é significativamente maior em pacientes com DAC ou doença arterial periférica do que em pessoas saudáveis (KAIBE et al., 2005; GOKKUSU et al., 2010). Há um aumento do risco de DAC relacionado a diferenças nas variáveis genéticas de IL-15 e IL-15R α , além da associação com o tecido adiposo visceral, especialmente o epicárdico, um tecido adiposo visceral metabolicamente ativo, circundante e infiltrado no miocárdio e nos grandes vasos. Sugerindo, assim uma relação entre DAC, obesidade e inflamação (VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006; FOX et al., 2007; DESPRES, 2012).

1.4 LESÕES DE ÓRGÃOS-ALVO

Os órgãos-alvo na HAS são coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos (LENFANT et al., 2003). Vários estudos sugerem que os mecanismos inflamatórios e imunológicos são cruciais no desenvolvimento e progressão de lesões de órgãos-alvo em pacientes hipertensos (NAVARRO-GONZÁLEZ, 2008). Os processos inflamatórios e apoptóticos podem induzir alterações na função cardíaca, na resistência vascular periférica, nos mecanismos de controle renal de eletrólitos e no volume plasmático. Além disso, concentrações de moléculas inflamatórias e certas citocinas, são preditivos para eventos cardiovasculares futuros (VALGIMIGLI et al., 2005).

Fatores comuns na HAS incluem a presença da ANG II e da aldosterona, das citocinas e das alterações de forças mecânicas, assim como, a elasticidade e a tensão de cisalhamento. Estimulam, portanto, fontes enzimáticas, tais como a NOX, síntese de NO e mitocôndria desacoplada para produzir ROS, que contribuem para a gênese da hipertensão (HARRISON, GONGORA, 2009).

Evidências relatam que as respostas imunes, inata e adaptativa, contribuem para a disfunção vascular, tendo como reflexo o estado de inflamação endolelial

(HARRISON et al., 2008). A inflamação endotelial reflete na HAS, pois interfere no desenvolvimento e progressão da hipertensão, aterosclerose e outras condições associadas ao dano vascular. Os primeiros estudos foram realizados por Svendsen (SVENDSEN et al., 1976).

No sistema nervoso central, ROS promovem o aumento da atividade simpática, podendo induzir vasoconstrição. No rim, provocam retenção de sódio e aumento do volume sanguíneo. Esses acontecimentos, podem simultaneamente causar HAS, mas também contribuem para a reação inflamatória sistêmica, que continuaria a elevar a PA sanguínea. A ativação de ROS e fatores pró-inflamatórios, tais como fatores de transcrição, fator de transcrição nuclear eritróide relacionado ao fator 2 (Nrf2), NF- κ B e Proteína ativadora 1 (AP1) (SEN; PACKER, 1996; IMHOFF; HANSEN, 2009) modulam a expressão de genes e promovem a inflamação (MORIUCHI, H., MORIUCHI, M., FAUCI, 1997; INNAMORATO et al., 2008). Estes mediadores aumentam a permeabilidade endotelial pela lesão oxidativa, promovendo assim a entrada de lipoproteínas para o espaço subendotelial, onde são oxidadas, com conseqüente inflamação (SIMA; STANCU; SIMIONESCU, 2009). Macrófagos e granulócitos liberam ROS, promovendo ainda nesse contexto, um ambiente oxidativo adicional (GUZIK et al., 2007). Lipoproteínas oxidadas podem interagir com receptores do tipo Toll, em particular TLR4, ampliando o processo inflamatório e promovendo a doença vascular (SIMA; STANCU; SIMIONESCU, 2009).

Na inflamação gerada pela HAS, encontramos elevados níveis de biomarcadores como a interleucina 6 (IL-6), 10 (IL-10), 1 β (IL-1 β) e TNF- α relacionados à DAC. Estes biomarcadores estão envolvidos na rigidez arterial, um fator de risco cardiovascular. Ainda, a elevação das concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- α foram correlacionadas com a rigidez arterial em pacientes hipertensos (MAHMUD; FEELY, 2005).

Em 2008, Mauno e colaboradores num estudo longitudinal abordado em pacientes normotensos, seguidos por 6,5 anos, a IL-1 β foi associada a mudanças nos níveis pressóricos e ocorrência de HAS. (MAUNO; HANNU; ESKO, 2008). Por outro lado, há evidências que a IL-10, exerça proteção vascular por sua ação anti-inflamatória. Na ausência de IL-10, a infusão de ANG II promoveu alteração na função vascular

(DIDION et al., 2009). A IL-10 inibe a liberação de mediadores inflamatórios realizada por macrófagos e monócitos que impedem a secreção de citocinas pró inflamatórias como IL-6, TNF- α e IL-1 β (DE WAAL MALEFYT et al., 1991; FIORENTINO, et al., 1991).

As células endoteliais influenciam a regulação do tônus vascular pela liberação de fatores vasodilatadores, tais como NO (IGNARRO, 1989), prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (FELETOU; VANHOUTTE, 1988). Na microcirculação do leito vascular (TADDEI et al., 1998), o relaxamento vascular da microcirculação é dependente do endotélio (VANHOUTT, 1989), e a regulação negativa ou inibição da síntese da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) afeta esse processo (THUILLEZ; RICHARD, 2005) e contribui para o aumento da resistência periférica e consequente aumento dos níveis pressóricos (GUZIK et al., 2007).

A interação de eNOS com radicais $O_2^{\cdot -}$ promove a vasoconstrição e elevação da PA (GRYGLEWSKI; PALMER; MONCADA, 1986). A maior parte da produção de $O_2^{\cdot -}$ na vasculatura origina-se pela ação da NOX expressa em células endoteliais, do músculo liso vascular, fibroblastos, monócitos e/ou macrófagos (LASSÈGUE; CLEMPUS, 2003). Podem ser ativados pela ANG II através dos receptores AT1, que consequentemente liberam $O_2^{\cdot -}$ reagindo e inativando NO como fator adicional no aumento da resistência vascular sistêmica e elevação da PA sanguínea (BRANDES; KREUZER, 2005). No rim há um reforço na reabsorção de sódio renal, diminuindo a excreção, o que aumenta o volume plasmático e contribui para a HAS (WILCOX, 2005). Outro importante agonista da geração de radicais de oxigênio vascular é o TNF- α (DEKEULENAER et al., 1998), ativado pela NOX em células endoteliais (CHEN et al., 2004).

A inflamação renal, seus companheiros constantes, estresse oxidativo e ativação renal do sistema renina-angiotensina desempenham um papel crítico no comprometimento da relação pressão-natriurese (WILCOX, 2005; VAZIRI; RODRIGUEZ-ITURBE, 2006; TIAN et al., 2007; RODRIGUEZ-ITURBE, 2010). Estas condições patogênicas, atuando em conjunto, causam doença microvascular das arteríolas aferentes e redução da rede capilar peritubular. Há diminuição na capacidade de difusão impostas pelo acúmulo de células, edema e eventual fibrose

em áreas túbulo-intersticiais do rim. Rarefação renal e perda de capilares peritubulares têm sido demonstrado em seres humanos e modelos experimentais de hipertensão em SHR (BOHLE et al., 1996; JOHNSON et al., 1999; RAQY et al., 2001).

A geração de ANG II local, favorece a vasoconstrição glomerular e regula positivamente o *feedback* túbulo glomerular, mas induz, entretanto, a reabsorção tubular de sódio proximal (NAVAR et al., 2002). A inflamação e a atividade local da ANG II em associação com a redução do número de capilares peritubulares, são responsáveis pelo desenvolvimento de estresse oxidativo, que tende a aumentar progressivamente, gerando forte impulso para a retenção de sódio (MAKINO et al., 2002; COWLEY, 2008). Além disso, a inflamação compromete a função dos receptores de dopamina D1, que estão envolvidos na excreção de sódio e têm sido implicados em seres humanos e modelos experimentais de hipertensão sensível ao sal (ASGHAR; CHUG; LOKHANDWALA, 2009).

A resultante de danos microvasculares no rim ocorre pela imparidade da natriurese pressórica, fundamental para a fisiopatologia do balanço de sódio renal (RODRIGUEZ-ITURBE et al., 2007; JOHNSON et al., 2007). Como postulado por Guyton, na hipertensão sensível ao sal, a relação pressão-natriurese é menos íngreme e ocorre maior elevação na pressão sanguínea, necessária para obter qualquer aumento na excreção de sódio urinário. A PA elevada é, portanto, uma resposta adaptativa para manter a homeostase no balanço de sódio (GUYTON et al., 1972; GUYTON, 1991).

Assim, é complexa a rede de eventos que podem culminar com a elevação da PA. Muitos desses passam por mecanismos de sinalização com envolvimento da resposta imune, que podem, potencialmente contribuir para a gênese da hipertensão, ou ainda para a manutenção ou desenvolvimento de lesão em órgãos-alvo. Neste estudo, analisamos mediadores da resposta imune em pacientes com hipertensão essencial leve, na ausência de co-morbidades e fatores de risco associados, grupo de pacientes ainda pouco estudados.

2 REFERÊNCIAS

- Asghar M, Chug G, Lokhandwala MF. Inflammation compromises renal dopamine D1 receptor function in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297: F1543–F1549.
- Ba D, Takeichi N, Kodama T, Kobayashi H. Restoration of T cell depression and suppression of blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR) by thymus grafts or thymus extracts. *J Immunol* 1982; 128: 1211-1216.
- Bakris GL, Williams M, Dworkin, L, et al. Preservation of renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. National Kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 646 -61.
- Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu Y et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000; 18:767-811.
- Barbieri M, Ferrucci L, Corsi AM, et al. Is chronic inflammation a determinant of blood pressure in the elderly? *American Journal of Hypertension* 2003; 16 (7): 537–543.
- Bastos RM, Bastos MG, Ribeiro LC, Bastos RV, Teixeira MT. Prevalência da doença renal crônica nos estágios 3, 4 e 5 em adultos. *Rev Assoc Med Bras* 2009; 55(1): 40-4.
- Beevers G, Lip Gyh, O'brien E. The pathophysiology of hypertension. *BMJ* 2001; 322: 912-916.
- Bendich A, Belisle EH, Strausser HR. Immune system modulation and its effect on the blood pressure of the spontaneously hypertensive male and female rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 99: 600–607.
- Berk JL, Franzblau CC, Goldstein RH. Recombinant interleukin-1 beta inhibits elastin formation by a neonatal rat lung fibroblast phenotype. *J Biol Chem* 1991; 266: 3192–3197.
- Blauvelt A, Asada H, Klaus-Kovtun V, Altman DJ, Lucey DR, Katz SI. Interleukin-15 mRNA is expressed by human keratinocytes, Langerhans cells, and blood-derived dendritic cells and is downregulated by ultraviolet B radiation. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1047-1052.
- Bohle A, Muller G, Whermann M, Mackensen-Haen S, Xiao J-C. Pathogenesis of chronic renal failure in the primary glomerulopathies, renal vasculopathies and chronic interstitial nephritides. *Kidney Int.* 1996; 49 suppl 54: S2–S9.
- Brandes RP, Kreuzer J. Vascular NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 16–27.
- Brasil. Ministério da Saúde. Hipertensão Arterial Sistêmica para o Sistema Único de Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica: Brasília 2006.

- Britton KA, Gaziano JM, Djousse L. Normal systolic blood pressure and risk of heart failure in US male physicians. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 1129-1134.
- Butchi NB, Pourciau S, Du M, Morgan TW, Peterson KE. Analysis of the neuroinflammatory response to TLR7 stimulation in the brain: comparison of multiple TLR7 and/or TLR8 agonists. *J Immunol* 2008; 180: 7604-7612.
- Campese VM, Shaohua Y, Zhong H. Downregulation of neuronal nitric oxide synthase and interleukin-1 β mediates angiotensin II - dependent stimulation of sympathetic nerve activity. *Hypertension* 2002; 39 (part 2): 519–524.
- Carson WE, Ross ME, Baiocchi RA, et al. Endogenous production of interleukin 15 by activated human monocytes is critical for optimal production of interferon-gamma by natural killer cells in vitro. *J Clin Invest* 1995; 96:2578-2582.
- Cesarino CB, Cipullo JP, Martin JFV, Ciorlia LA, Godoy MRP, Cordeiro JÁ, et al. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto. *Arq Bras Card* 2008; 91(1): 31–35.
- Chen XL, Zhang Q, Zhao R, Medford RM. Superoxide, H₂O₂, and iron are required for TNF- α -induced MCP-1 gene expression in endothelial cells: role of Rac1 and NADPH oxidase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1001–H1007.
- Conway J, Boon N, Davies C, Jones JV, Sleight P. Neural and humoral mechanisms involved in blood pressure variability. *J Hypertens* 1984; 2: 203–208.
- Cowley AW. Renal medullary oxidative stress, pressure-natriuresis and hypertension. *Hypertension* 2008; 52: 777–786.
- Cretney E., Takeda K., Yagita H., Glaccum M., Peschon JJ, Smyth MJ Increased susceptibility to tumor initiation and metastasis in TNF-related apoptosis-inducing ligand-deficient mice. *Journal of Immunology* . 2002; 168 (3):1356–1361.
- Cruvinel WM, Mesquita D Jr, Araujo JA, et al. Immune system – Part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. *Rev Bras Reumatol* 2010; 50: 434–461.
- Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JÁ. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 742-780.
- Dalekos GN, Elisaf M, Bairaktari E, Tsolas O, Siamopoulos KC. Increased serum levels of interleukin-1 β in the systemic circulation of patients with essential hypertension: additional risk factor for atherogenesis in hypertensive patients? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1997; 129(3): 300–308.
- de Waal Malefyt R, et al. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174(5): 1209-20.
- Degli-Esposti MA, Smolak PJ, Walczak H, Waugh J, Huang CP, DuBose RF, Goodwin RG, Smith CA. (1997) Cloning and characterization of TRAIL-R3, a novel member of the emerging TRAIL receptor family. *J Exp Med* 1997; 186:1165–1170.

- DeKeulenaer GW, Alexander RW, Ushio-Fukai M, Ishizaka N, Griendling KK. Tumor necrosis factor alpha activates a p22 phox based NADH oxidase in vascular smooth muscle cells. *J Biochem* 1998; 329: 653–657.
- Despres JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation* 2012; 126: 1301–1313.
- Di Bartolo BA, Chan J, Bennett MR, et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) protects against diabetes and atherosclerosis in Apoe $-/-$ mice. *Diabetologia* 2011; 54(12):3157–3167.
- Didion SP. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Hypertension* 2009; 54(3): 619-24.
- Doherty TM, Seder RA, Sher A. Induction and regulation of IL-15 expression in murine macrophages. *J Immunol* 1996; 156: 735-741.
- Dzielak DJ. Immune mechanisms in experimental and essential hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1991; 260: R459–R467.
- Fazan JR R, Dias da Silva VJ, Salgado HC. Modelos de hipertensão arterial. *Rev. Bras. Hipertens* 2001; 8: 19-29.
- Feig DI, Johnson RJ. Hyperuricemia in childhood primary hypertension. *Hypertension* 2003; 42: 247–252.
- Fiorentino DF, et al. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991; 147(11): 3815-22
- Fischer M, Ehlers M. Toll-like receptors in autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1143: 21-34.
- Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1997; 116: 39–48.
- Gokkusu C, Aydin M, Ozkok E, Tulubas F, Elitok A, et al. Influences of genetic variants in interleukin-15 gene and serum interleukin-15 levels on coronary heart disease. *Cytokine* 2010; 49: 58–63.
- Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, et al. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994; 264: 965-968.
- Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454–460.
- Guyton AC, Coleman TG, Cowley AW, Jr, Scheel KW, Manning RD, Jr, Norman RA. Jr Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am J Med* 1972; 52: 584–594.
- Guyton AC. Blood pressure control: special role of the kidneys and body fluids. *Science* 1991; 252: 1813–1816.

- Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med* 2007; 204: 2449–2460.
- Harrison DG, Gongora MC. Oxidative stress and hypertension. *Med Clin North Am* 2009; 93: 621– 635.
- Harrison DG, Guzik TJ, Goronzy J, Weyand C. Is hypertension an immunologic disease? *Curr Cardiol Rep* 2008; 10: 464–469.
- Harrison DG, Guzik TJ, Lob H, Madhur M, Marvar PJ, Thabet S, et al. Inflammation, Immunity, and Hypertension. *Hypertension* 2011; 57: 132-140.
- Harrison DG, Vinh A, Lob H, Madhur MS. Role of the adaptive immune system in hypertension. *Curr Opin* 2010; *Pharm* 10: 203–207.
- Hernandez-Presa M, Bustos C, Ortego M, Tunon J, Renedo G, Ruiz-Ortega M, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemo attractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation* 1997; 95: 1532–1541.
- Houtkamp MA, van Der Wal AC, de Boer OJ, van Der Loos CM, de Boer PA, et al. Interleukin-15 expression in atherosclerotic plaques: an alternative pathway for T-cell activation in atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1208–1213.
- Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ Res* 1989; 65:1–21.
- Imhoff BR, Hansen JM. Extracellular redox status regulates Nrf2 activation through mitochondrial reactive oxygen species. *Biochem J* 2009; 424: 491–500.
- Innamorato NG, Rojo AI, Garcia-Yague AJ, Yamamoto M, de Ceballos ML, Cuadrado A. The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation. *J Immunol* 2008; 181: 680–689.
- Johnson RJ, Herrera J, Schreiner G, Rodríguez-Iturbe B. Acquired and subtle renal injury as a mechanism for salt-sensitive hypertension: Bridging the hypothesis of Goldblatt and Guyton. *N Engl J Med* 2007; 346: 913–923.
- Jones DW, Appel LJ, Sheps SG, et al. Measure blood pressure accurately: new and persistent challenges. *JAMA* 2003; 289:1027-1030.
- Jonuleit H, Wiedemann K, Muller G, et al. Induction of IL-15 messenger RNA and protein in human blood-derived dendritic cells: a role for IL-15 in attraction of T cells. *J Immunol* 1997;158: 2610-2615.
- Judy WV, Watanabe AM, Henry DP, Besch HR Jr, Murphy WR, Hockel GM. Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ. Res* 1976; 38: 21-9.
- Kaibe M, Ohishi M, Ito N, Yuan M, Takagi T, et al. Serum interleukin-15 concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2005; 18: 1019–1025.

Kalaitzidis RG, Bakris GL. Pre hypertension: is it relevant for nephrologists? *Kidney Int* 2010; 77: 194-200.

Kawai K, Suzuki H, Tomiyama K, Minagawa M, Mak TW, Ohashi PS. Requirement of the IL-2 receptor beta chain for the development of Vgamma3 dendritic epidermal T cells. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 961-965.

Lancet. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. September 2014.

Le Noble FA, Stassen FR, Hacking WJ, Struijker Boudier HA. Angiogenesis and hypertension. *J Hypertens* 1998; 16:1563-1572.

Le Noble JL, Tangelder GJ, Slaaf DW, Van Essen H, Reneman RS, Struijker Boudier HA. A functional morphometric study of the cremaster muscle micro-circulation in young spontaneous hypertensive rats. *J Hypertens* 1990; 8: 741-748.

Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, Roccella EJ. Sétimo relatório do Comitê Misto Nacional de Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento da Hipertensão Arterial (JNC 7): o reajuste das metas da hipertensão. *Hipertensão* 2003; 41: 1178-1179.

Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* 2001; 104: 735-740.

Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-1913.

Lieschke GJ, Grail D, Hodgson G, Metcalf D, Stanley E, Cheers C, et al. Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization. *Blood* 1994; 84: 1737–1746.

Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010.

Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127:117-126.

Loss IO. Terapia celular na hipertensão arterial espontânea em ratos. 2011. 1 v. Tese (Doutorado) - Curso de Patologia Clínica, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba 2011.

Lurbe E, Cifkova R, Cruickshank JK, Dillon MJ, Ferreira I, Invitti C, et al. Management of high blood pressure in children and adolescents: recommendation of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2009; 27: 1719-1742.

Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, Libby P. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth

muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:1931–1936.

Makino A, Skelton MM, Zou AP, Roman RJ, Cowley AW. Jr Increased renal medullary oxidative stress produces hypertension. *Hypertension* 2002; 39: 667–672.

Malta DC, Moura L, Souza FM, Rocha FM, Fernandes FM. Doenças crônicas não-transmissíveis: mortalidade e fatores de risco no Brasil, 1990 a 2006 in *Saúde Brasil 2008*. Ministério da Saúde, Brasília 2009; 337–362.

Mauno V, Hannu K, Esko K. Proinflammation and hypertension: a population-based study. *Mediators Inflamm* 2008; 619-704.

Mcintyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension* 1999; 34: 539-545.

Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci AS. Nuclear factor-kappa B potently up-regulates the promoter activity of RANTES, a chemokine that blocks HIV infection. *J Immunol* 1997; 158: 3483–3491.

Muller DN, Dechend R, Mervaala EM, Park JK, Schmidt F, Fiebeler A, et al. NF- κ B inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats. *Hypertension* 2000; 35: 193–201.

Murray AM, Simm B, Beagley KW. Cytokine gene expression in murine fetal intestine: potential for extrathymic T cell development. *Cytokine* 1998;10: 337-345.

Navar LG, Harrison-Bernard LM, Nishiyama A, Kobori H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. *Hypertension* 2002; 39: 316–322.

Navarro-González JF, Mora C, Muros M, Jarque A, Herrera H, García J. Association of tumor necrosis factor-alpha with early target organ damage in newly diagnosed patients with essential hypertension. *J Hypertens* 2008; 26: 2168-75.

Noon JP, Walker BR, Webb DJ, Shore AC, Holton DW, Edwards HV, et al. Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in Young adults with a predisposition to high blood pressure. *J Clin Invest* 1997; 99:1873-1879.

O'Brien E, Asmar R, Beilin L, et al. European Society of Hypertension recommendations for conventional measurement, outpatient and residential blood pressure. *J Hypertens* 2003; 21: 821-48.

Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Cir. J* 1963; 27: 282-293.

Okuda T, Grollman A. Passive transfer of autoimmune induced hypertension in the rat by lymph node cells. *Tex Rep Biol Med* 1967; 25: 257–264.

Organização Mundial de Saúde. Prevention of Cardiovascular Disease. Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. Geneva: WHO 2013.

Pan G, Ni J, Wei YF, Yu GL, Gentz GR, Dixit VM. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* 1997; 277:815–818.

- Pober JS, Kluger MS, Schechner JS. Human endothelial cell presentation of antigen and the homing of memory/effector T cells to skin. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 941:12–25.
- Potts JT, Mckeown KP, Shoukas AA. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. *Am J Physiol* 1998; 43: H1121-H1131.
- Prewitt RL, Chen II, Dowell R. Development of microvascular rarefaction in the spontaneously hypertensive rat. *Am.J.Physiol* 1982; 243: 243 – 251.
- Prieto A, Pérez A, Reyes E, Alvarez-Mon M. Tolerancia y autoinmunidad. *Medicine* 1997; 51: 2303-8.
- Prieto A, Reyes E, Sanz E, Alvarez-Mon M. Activación de las subpoblaciones de linfocitos a sus funciones efectoras. *Medicine* 1997; 51: 2263-7.
- Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, Savoie F, Arnal JF, Michel JB. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 645–651.
- Raqy PE, Suga S, Lin X-H, Huang X, Johnson RJ. Chronic potassium depletion induces renal injury, salt-sensitivity and hypertension in young rats. *Kidney Int* 2001; 59: 1850–1858.
- Richardson DW, Honour AJ, Fenton GW, Stott FH, Pickering GW. Variation in arterial pressure throughout the day and night. *Clin Sci* 1964; 26: 445–460.
- Rodriguez-Iturbe B, Romero F, Johnson RJ. Pathophysiologic mechanisms of salt sensitive hypertension. *Am J Kidney Dis* 2007; 50: 655–672.
- Rodriguez-Iturbe B, Pons H, Quiroz Y, Gordon K, Rincon J, Chavez M, et al. Mycophenolate mofetil prevents salt-sensitive hypertension resulting from angiotensin II exposure. *Kidney Int* 2001; 59: 2222–2232.
- Rosário TM, Scala LCNS, França GVA, Pereira MRG, Jardim PCBV. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. *Arq Bras Card* 2009; 93(6): 672–678.
- Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *The New England Journal of Medicine* 1999; 340(2):115–126.
- Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000; 87: 1195–1201.
- Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, Wesselborg S, Peter ME. Apoptosis signaling by death receptors. *Eur J Biochem* 1998; 254:439–459.
- Secchiero P, Corallini F, Di Iasio MG, Gonelli A, Barbarotto E, Zauli G. TRAIL counteracts the proadhesive activity of inflammatory cytokines in endothelial cells by

down-modulating CCL8 and CXCL10 chemokine expression and release. *Blood* 2005; 105(9): 3413–3419.

Sedger LM, Glaccum MB, Schuh JC, et al. Characterization of the in vivo function of TNF- α related apoptosis-inducing ligand, TRAIL/Apo2L, using TRAIL/Apo2L gene-deficient mice. *European Journal of Immunology* 2002; 32(8): 2246–2254.

Sen CK, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *Faseb J* 1996; 10: 709–720.

Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res* 2009; 335: 191–203.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2006; 1–48.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2010; Suppl 1: 275-82.

Stanley ER, Guilbert LJ, Tushinski RJ, Bartelmez SH. CSF-1—a mononuclear phagocyte lineage-specific hematopoietic growth factor. *J Cell Biochem* 1983; 21: 151–159.

Sullivan JM, Prewitt RL, Josephs JA. Attenuation of the microcirculation in young patients with high-output borderline hypertension. *Hypertension* 1983; 5: 844-851.

Sun L, Gao YH, Tian DK, et al. Inflammation of different tissues in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiologica Sinica* 2006; 58 (4): 318–323.

Svendsen UG. Evidence for an initial, thymus independent and a chronic, thymus dependent phase of DOCA and salt hypertension in mice. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1976; 84: 523–528.

Svendsen UG. The role of thymus for the development and prognosis of hypertension and hypertensive vascular disease in mice following renal infarction. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1976; 84: 235–243.

Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation* 1998; 97: 2222–2229.

Thuillez C, Richard V. Targeting endothelial dysfunction in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens* 2005; 19: S21–S25.

Tian N, Gu JW, Jordan S, Rose RA, Hughson MD, Manning RD., Jr Immune suppression prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H1018–1025.

Trott DW, Harrison DG. The immune system in hypertension. *Adv Physiol Educ* 2014; 38: 20–24.

Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, Merli E, Soukhomovskaia O, Francolini G, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new

onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study. *Circulation* 2005; 111: 863-70.

Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 2006; 444: 875–880.

Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function: state of the art lecture. *Hypertension* 1989; 13: 658–667.

Vinay DS, Kwon BS. TNF superfamily: costimulation and clinical applications. *Cell Biol Int* 2009; 33: 453–465.

Wang JM, Griffin JD, Rambaldi A, Chen ZG, Mantovani A. Induction of monocyte migration by recombinant macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1988; 141: 575–579.

Weiler M, Rogashev B, Einbinder T, et al. Interleukin-15, a leukocyte activator and growth factor, is produced by cortical tubular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1194-1201.

Wiktor-Jedrzejczak W, Bartocci A, Ferrante AW Jr., Ahmed-Ansari A, Sell KW, Pollard JW, et al. Total absence of colony-stimulating factor 1 in the macrophage-deficient osteopetrotic (op/op) mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 4828–4832.

Williams B. The year in hypertension. *JACC* 2010; 55(1): 66–73

Ye S, Mozayeni P, Gamburd M, Zhong H, Campese VM. Interleukin-1 β and neurogenic control of blood pressure in normal rats and rats with chronic renal failure. *American Journal of Physiology* 2000; 279 (6): H2786–H2796.

Yoshida H, Hayashi S, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, Okamura H, et al. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature* 1990; 345: 442–444.

ARTIGO

Serum levels of inflammatory mediators in essential hypertension

Ana Paula Mendes da Silva¹, Marco Antônio Vieira da Silva², Valdo José Dias da Silva³, Betânia Maria Ribeiro⁴, Nazaré Pellizzetti Szymaniak⁵, Virmondes Rodrigues Jr⁶.

Correspondence: Virmondes Rodrigues Júnior. Universidade Federal do Triângulo Mineiro Uberaba/Brasil - Laboratório de Imunologia. Tel: +55(34)33185289. E-mail: vrodrigues@mednet.com.br

Keywords: essential hypertension, inflammation, inflammatory mediators.

Abstract

Background and aims: The incidence of essential hypertension is high worldwide. Some studies have identified associations between hypertension and changes in the immune system, particularly in proinflammatory mediators. The classic mediators of inflammation and new markers associated with tumor necrosis factor (TNF) signaling were assessed in hypertensive individuals and normotensive controls to investigate possible changes in the inflammatory response in the early stages of disease.

Method: A total of 49 adults, 24 with systemic arterial hypertension and 25 controls, underwent outpatient blood pressure monitoring, collection of anthropometric data and cardiovascular risk assessment. Serum cytokine levels were assessed in all the participants by means of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results: All the participants exhibited low cardiovascular risk. The serum levels of the cytokines interleukin IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15, tumor necrosis factor receptor types 1 and 2 (TNFR1 and TNFR2) and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) were compared between the participants with mild essential hypertension and normotensive controls. There were no significant differences between the groups.

Conclusion: The systemic inflammatory response was not altered in the patients with mild essential hypertension. The hypothesis that changes in the levels of serum cytokines and TNF receptors are not involved in the etiopathogenesis of essential hypertension was confirmed. The associations identified in more advanced cases may be attributed to other risk factors or endothelial abnormalities caused by hypertension itself.

INTRODUCTION

The incidence of essential hypertension, characterized by sustained high blood pressure (BP) levels, is high worldwide. A multifactorial chronic degenerative disease, essential hypertension is asymptomatic in most cases. The disease is frequently associated with functional and/or structural alterations in the target organs, and persistent elevation of the peripheral vascular resistance is its primary hemodynamic marker. ¹ Some studies found an association between hypertension and disorders of the immune system, more particularly with proinflammatory mediators. ²

Inflammation is mediated by cytokines and intercellular adhesion molecules expressed by the vascular endothelial cells. Changes in inflammatory mediators have been described in both patients and experimental models of angiotensin-dependent hypertension. ^{2,3} Inflammation and apoptosis can induce changes in heart function, peripheral vascular resistance, renal electrolyte control mechanisms and plasma volume. In addition, high concentrations of inflammatory mediators and some cytokines are predictive of future cardiovascular events. ⁴ Cytokines are polypeptides or glycoproteins produced by several cell types. They act by means of autocrine, paracrine or endocrine mechanisms and are present in various tissues. ^{5,6} Similar actions may be triggered by different cytokines. ⁷

Several biomarkers involved in arterial stiffness of coronary artery are elevated in inflammation associated with systemic arterial hypertension (SAH), including interleukin (IL) 6, IL-10, IL-1 β and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). ⁸

This study was justified by the need to investigate possible changes in the inflammatory response in the early stages of the disease.

The objective of this study was to compare the classic inflammatory mediators and new markers associated with TNF signaling in the genesis of SAH between hypertensive patients with low cardiovascular risk and normotensive controls.

METHODS

Case series

The setting of the study was the Cardiology Diagnosis Center, a regional referral center in cardiology located in the municipality of Uberaba (Minas Gerais – MG, Brazil), where 1,868 adults subjected to outpatient BP monitoring (OBPM) were assessed from March 2013 to

May 2014. The study sample consisted of 49 adults, of which 24 presented with essential hypertension (experimental group) and 25 with normal BP (control group), matched by age and gender. The patients were approached in the early stages of disease before the onset of antihypertensive treatment.

Adults (over 18 years old) with medical indication of OBPM and who agreed to participate in the study by signing an informed consent form were included in the study. Individuals with other cardiovascular diseases, mental deficiency impairing the performance of tests, type 1 or 2 *diabetes mellitus* (DM), confirmed HAS before OBPM, hypercholesterolemia, overweight or obesity, waist circumference >102 cm in men and >88 cm in women, and use of any pharmacological treatments and smokers were excluded. Data collection was started after the study was approved by the research ethics committee (REC) of the Federal University of Minas Triangle (Universidade Federal do Triângulo Mineiro) under protocol no. 2643. All study procedures were in compliance with the REC ethical standards.

Clinical assessment and blood sample collection

OBPM for diagnosis of SAH was performed according to the 5th Brazilian Guidelines for Outpatient Blood Pressure Monitoring.⁹ In all OBPM procedures, the device Dynamapa, validated and acknowledged by the British Hypertension Society (BHS), was used to measure BP over a 24-hour period. The test was considered to be adequate from the technical point of view when the rate of valid measurements was above 80%. Five-milliliter peripheral blood samples were collected from all the participants in dry tubes for measurement of serum cytokines.

ELISA for measurement of serum cytokines

Cytokines IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15; tumor necrosis factor receptor types 1 and 2 (TNFR1 and TNFR2); and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) were measured by means of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). High-affinity binding 96-well plates (Nunc, Roskilde, Denmark) were sensitized with monoclonal antibodies specific for each investigated cytokine (BD Biosciences) under the conditions recommended by the manufacturer in carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.5) and were incubated overnight at 4 °C. After incubation, the content of the wells was discarded, and the plates were blocked with 200 μ L/well of phosphate buffer containing 2% phosphate-buffered saline/bovine serum albumin (PBS-BSA)

(Sigma, St. Louis, MO) over 4 hours at room temperature. The PBS-BSA was then discarded, and rows 1 to 10 were filled with serum samples diluted 1:2 in 1% PBS-BSA to a total volume of 100 μ L/well. Serial dilutions of recombinant cytokines were used to elaborate the standard curve, as recommended by the corresponding manufacturers. Wells H11 and H12 were used as blank wells and were filled with 100 μ L of 1% PBS-BSA only. The plates were incubated overnight at 4 °C and then rinsed four times with PBS solution containing 0.05% Tween (Sigma). Next, biotin-conjugated antibodies (BD Biosciences) specific for each investigated cytokine were added to the wells diluted with 1% PBS-BSA at the concentration indicated by the manufacturer to a total of 100 μ L/well. The plates were incubated for 4 hours at 37 °C, rinsed with 0.05% PBS Tween, treated with 100 μ L/well of peroxidase-conjugated streptavidin, and then incubated for 3 hours at 37 °C. Lastly, the plates were rinsed with 0.05% PBS-Tween. A total of 100 μ L of development buffer with tetramethylbenzidine (TMB) was added per well away from light and at room temperature; the reaction was stopped by adding 50 μ L of sulfuric acid. The results were obtained by measuring absorbance at 450 nm using an ELISA automatic reader (Enspire, Perkin Elmer, USA). The cytokine concentrations were determined based on linear regression using the absorbance values obtained from the recombinant cytokine curves and are expressed as pg/ml. The method sensitivity varied from 10 to 18 pg/ml.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the programs Excel 2010 for Windows (Microsoft, USA) and Statview (Abacus, USA). The normality of the quantitative variables was investigated by means of the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests. Student's t-test was used to analyze clinical parameters such as age, body mass index (BMI) and waist circumference. The cytokine levels were analyzed using the Mann-Whitney test. The significance level was set to 5% (p value < 0.05) in all the quantitative tests.

RESULTS

The sample consisted of 49 participants: 25 (48%) were controls with BP < 140/90 mmHg, and 24 (46%) had SAH. The mean age of the total sample was 41 ± 13 years old: the hypertensive participants were 43 ± 13 years old, and the controls were 39 ± 13 years old. A total of 39 participants were male, and 13 participants were female; of these, 19 (49%) and 3 (23%) had SAH, respectively. The mean BMIs were 27 ± 3 in the hypertensive participants

and 26 ± 4 in the control group. The mean waist circumferences were 93 ± 6.5 cm in the SAH group and 89 ± 7 in the control group. These data are described in **Figure 1**.

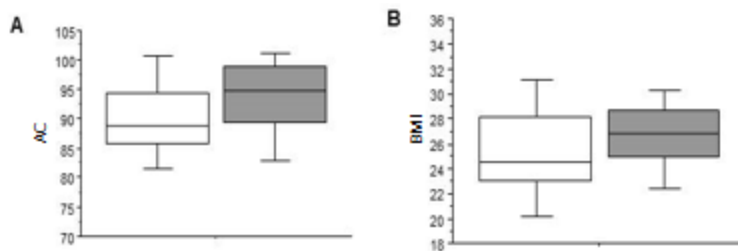


Figure 1. (A) Measurement of abdominal circumference and (B) body mass index. Comparison of abdominal measures of circumference of hypertensive patients and controls. The white color is the control patients and the dark color hypertensive. Horizontal lines represent the median, bars represent the 25th to 75th percentiles, and vertical lines indicate the 10th to 90th percentiles. Mann-Whitney test.

Assessment of the global cardiovascular risk by means of the revised Framingham risk scores for men and women revealed that all the participants (100%) were at low risk. No comorbidities such as smoking, DM or dyslipidemia were detected.

All participants underwent 24-hour OBPM after BP measurement. The data were used to calculate the mean BP (mBP) relative to three conditions: nighttime, 24 hours, and awake, the latter being the value chosen to define SAH according to the guidelines formulated by the Brazilian Cardiology Society (Sociedade Brasileira de Cardiologia - SBC).⁹ The median awake BP was 136/90 mmHg (variation: 154/108 to 120/83 mmHg) in the SAH group and 121/78 mmHg (variation: 138/84 to 110/65 mmHg) in the control group. These results are described in **Figure 2**.

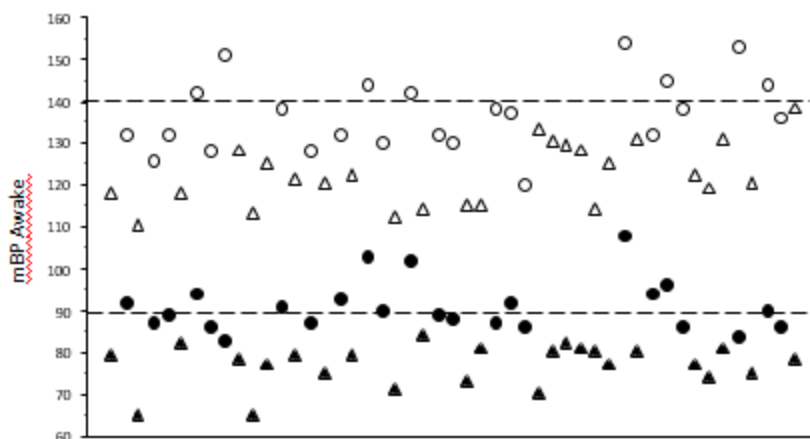
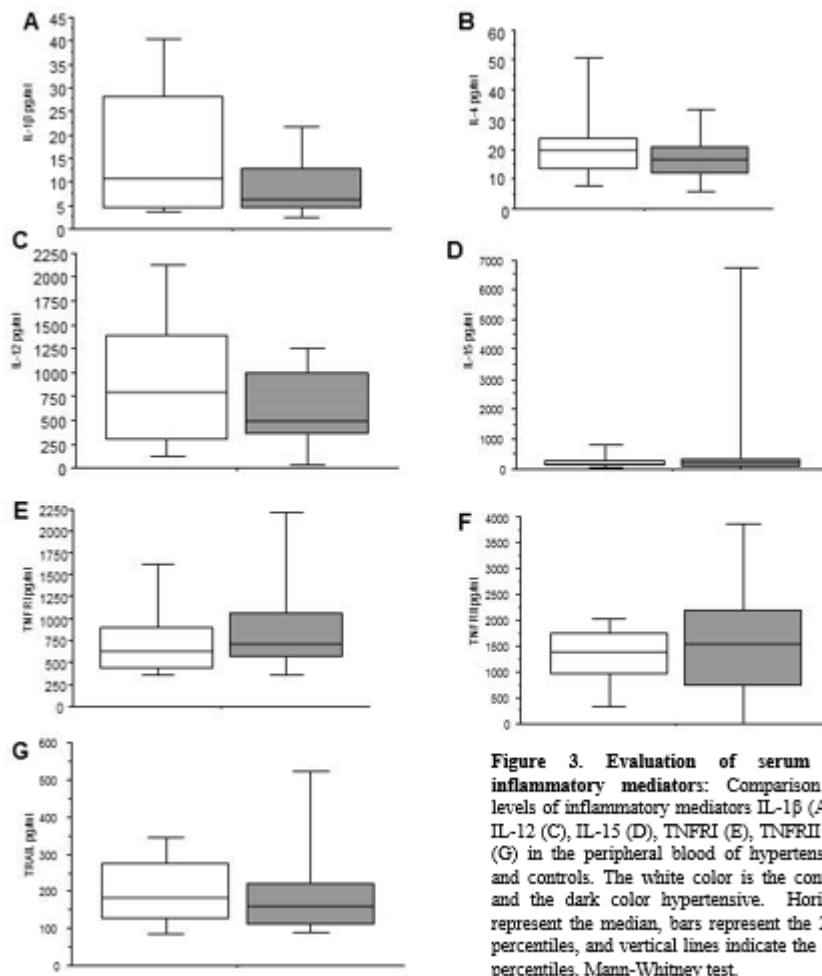


Figure 2. Vigil mean blood pressure in hypertensive patients and controls. The circles represent hypertensive and triangles controls. The white color is the systolic blood pressure and the dark color diastolic blood pressure. The dotted line represents the bordering systolic and diastolic blood pressure.

All patients underwent an echocardiogram, which was normal in 47 (90%) cases, while 4 (8%) exhibited discrete left ventricular hypertrophy (LVH), and 1 (2%) exhibited mitral regurgitation.

The serum levels of cytokines IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15, TNFR1, TNFR2 and TRAIL were compared between the participants with mild essential hypertension and the normotensive controls. The serum IL-1 β levels varied from undetectable to 45 pg/ml (median 11 pg/ml) in the control group and from undetectable to 27 pg/ml (median 6 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.16$). The serum IL-4 levels varied from undetectable to 168 pg/ml (median 20 pg/ml) in the control group and from undetectable to 485 pg/ml (median 16 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.3$). The serum IL-12 levels varied from undetectable to 7024 pg/ml (median 801 pg/ml) in the control group and from undetectable to 2664 pg/ml (median 490 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.2$). The serum IL-15 levels varied from undetectable to 2429 pg/ml (median 138 pg/ml) in the control group and from undetectable to 9968 pg/ml (median 179 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.8$). The serum TNFR1 levels varied from undetectable to 2340 pg/ml (median 622 pg/ml) in the control group and from undetectable to 3593 pg/ml (median 718 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.2$). The serum TNFR2 levels varied from undetectable to 5467 pg/ml (median 1380 pg/ml) in the control group and from undetectable to 4944 pg/ml (median 1536 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.4$). The serum TRAIL levels varied from undetectable to 688 pg/ml (median 186 pg/ml) in the control group and from undetectable to 2334 pg/ml (median 160 pg/ml) among the participants with mild hypertension. There was no significant difference between the groups (Mann-Whitney; $p = 0.3$). These data are shown in **Figure 3**.



DISCUSSION

Despite many studies, the etiology of essential hypertension has not yet been elucidated, and new approaches are needed to treat this condition. The present study used a population-based design to assess a mild degree of disease. Both the experimental and matched control groups exhibited low cardiovascular risk.

Development of LVH in response to pressure overload is not an isolated adaptive phenomenon but an important independent risk factor for cardiovascular disease, and SAH is the most common factor for complication.^{11,12} Enlargement of the left ventricular mass is an additional predictor of adverse cardiovascular events and maintains an elevated cardiac output in response to pathological stimuli, such as hypertension, obesity and myocardial injury.^{13,14} The association between SAH and LVH is known, as it was demonstrated in Framingham's study. The prevalence rates reported in that study showed that LVH on echocardiogram was most common among men compared to women, affecting 2% of the participants in the 49- to 54-year-old age range and 10% of the participants in the 75- to 80-year-old age range.¹⁵

Those findings agree with the ones of the present study, as 4 (8%) participants exhibited LVH on the echocardiogram, all of whom (100%) were male and aged 34 to 55 years old; 1 case (25%) had borderline BP and another 3 (75%) had SAH.

The serum levels of cytokines IL-1 β , IL-4, IL-12, IL-15, TNFR1, TNFR2 and TRAIL were compared between the participants with mild essential hypertension and the normotensive controls.

IL-1 β is a fundamental mediator in the inflammatory response that is mainly produced by macrophages and monocytes; it is also produced by non-immune cells, such as fibroblasts and endothelial cells activated in cell injury, infection, invasion and inflammation. The multiple biological actions of IL-1 β include systemic inflammation and induction of substance P, nitric oxide and endothelial adhesion molecule expression.^{16,17,18} Elevated IL-1 β levels were detected in the systemic circulation of patients with essential hypertension.^{19,20} Elevated IL-1 β in hypertensive patients behaved as an additional risk factor for atherogenesis.²¹ In agreement with the present study, other studies also found no association between elevated IL-1 β levels and SAH.²²

IL-4 participates in the Th2 response and is mainly produced by CD4 T lymphocytes and mast cells. Few studies have analyzed the association of IL-4 with SAH. In experimental models with spontaneously hypertensive rats, no difference was detected in IL-4 levels between the hypertensive and the normotensive animals, similar to the results of the present study.²³

IL-12 induces the Th1 response and is produced by dendritic cells and activated macrophages.²⁴ To the best of our knowledge, no study has assessed the association between IL-12 levels and SAH. The results of the present study suggest that no significant changes in the serum IL-12 levels occur in mild hypertension.

IL-15 has a powerful chemotactic action for T cells. It is predominantly produced by macrophages²⁵ and is able to induce TNF- α and interferon (IFN)- γ synthesis.^{26,27} Elevated serum levels of IL-15 were detected in hypertensive patients under antihypertensive treatment.²⁸ In the present study, which included patients with mild hypertension not using antihypertensive drugs, no difference was detected in the IL-15 levels.

TNF- α is a proinflammatory cytokine produced mainly by monocytes, macrophages and T lymphocytes. It exhibits two biologically active forms: transmembrane and secreted, TNFR1

and TNFR2, respectively. TNFR1 is exclusively expressed in neurons and is associated with most of the biological effects of TNF- α , including inflammatory responses and apoptosis. TNFR2 mainly manifests in dorsal root ganglion macrophages and monocytes and stimulates the proliferation of T lymphocytes, fibroblasts and natural killer (NK) cells.^{29,30,31} Significantly increased concentrations of TNF- α and its receptors were detected in individuals exhibiting risk factors for atherosclerosis, i.e., obesity and/or hypertension.³² Studies that investigated the arterial walls of hypertensive rats reported increased expression of TNF- α .³³ In agreement with the present study, other studies did not find associations between increased TNF- α levels, its receptors and hypertension.³⁴

TRAIL is a member of the TNF superfamily able to promote apoptosis in many types of cells, starting with the activation of caspase-8 followed by the activation of effector caspases. Both forms of TRAIL, soluble or membrane bound induce apoptosis in multiple transformed cell lines and tumor cells.^{35,36,37} No study has assessed the association between TRAIL levels and arterial hypertension. The results of this study suggest that no significant changes in the serum TRAIL levels occur in mild hypertension.

The results of this study did not demonstrate significant differences in the mediators that participate in the modulation of the immune response/inflammation between individuals with mild hypertension and normotensive controls. Even when taking the small sample size into consideration, the results suggest that the investigated markers are not involved in the genesis of arterial hypertension. Changes in the serum levels of these markers may be secondary to the process or may be associated with other risk factors or comorbidities related to hypertension.

Conflict of interest:

There is no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The Cardiology Diagnosis Clinic for providing the setting for data collection and the performance of the OBPM tests.

FINANCIAL SUPPORT

CAPES, CNPq, FAPEMIG, FUNEPU

REFERENCES

1. Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, Roccella EJ. Sétimo relatório do Comitê Misto Nacional de Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento da Hipertensão Arterial (JNC 7): o reajuste das velas da hipertensão. *Hipertensão*. 2003; 41: 1178-1179.
2. Harrison DG, Guzik TJ, Lob H, Madhur M, Marvar PJ, Thabet S, et al. Inflammation, Immunity, and Hypertension. *Hypertension*. 2011; 57: 132-140.
3. Butchi NB, Pourciau S, Du M, Morgan TW, Peterson KE. Analysis of the neuroinflammatory response to TLR7 stimulation in the brain: comparison of multiple TLR7 and/or TLR8 agonists. *J Immunol*. 2008; 180: 7604-7612.
4. Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, Merli E, Soukhomovskaia O, Francolini G, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study. *Circulation*. 2005; 111: 863-70.
5. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*. 2000; 127:117-126.
6. Sommer C, White F. Cytokines, Chemokines, and Pain, em: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. - *Pharmacology of Pain*. 1st Ed, Seattle, IASP Press. 2010; 279-302.
7. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45: 27-37.
8. Mahmud A, Feely J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. *Hypertension*. 2005; 46(5): 1118-22.
9. V Diretrizes Brasileiras de Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA V) e III Diretrizes Brasileiras de Monitorização Residencial da Pressão Arterial (MRPA III). Sociedades Brasileiras de Cardiologia, Hipertensão e Nefrologia. *Arq Bras Cardiol*. 2011; 97(3): 1-24.
10. Camarozano A, Rabischoffsky A, Maciel BC, Brindeiro Filho D, Horowitz ES, Pena JLB, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes das indicações da ecocardiografia. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 93(6 supl.3): 265-302.

11. White WB, Schulman P, Karimeddini MK, Smith VE. Regression of left ventricular mass is accompanied by improvement in rapid left ventricular filling following antihypertensive therapy with metropolol. *Am Heart J.* 1989; 117: 145-50.
12. Kannel WB, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AJ. Prognostic significance of regression of left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 1988; 78 (Suppl II): 89.
13. Savage DD, Levy D, Dannenberg AL, Garrison RJ, Castelli WP. Association of echocardiographic left ventricular mass with body size, blood pressure and physical activity (the Framingham Study) *Am J Cardiol.* 1990; 65: 371–376.
14. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med.* 1991; 114: 345–352.
15. Kannel WB, Gordon T, Offutt D. Left Ventricular Hypertrophy by Electrocardiogram - Prevalence, Incidence and Mortality in the Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1969; 71: 89-101.
16. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007; 45: 27-37.
17. Raeburn CD, Sheppard F, Barsness KA et al. Cytokines for surgeons. *Am J Surg.* 2002; 183: 268-273.
18. Wolf G, Livshits D, Beilin B et al. - Interleukin-1 signaling is required for induction and maintenance of postoperative incisional pain: genetic and pharmacological studies in mice. *Brain Behav Immun.* 2008; 22: 1072-1077.
19. Dörffel Y, Latsch C, Stuhlmüller B, et al. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension.* 1999; 34 (1): 113–117.
20. Vanhala M, Kautiainen H, Kumpusalo E. Proinflammation and Hypertension: A Population-Based Study. *Mediators of Inflamm.* 2008; 619-704.
21. Dalekos GN, Elisaf M, Bairaktari E, Tsolas O, Siamopoulos KC. Increased serum levels of interleukin-1 β in the systemic circulation of patients with essential hypertension:

additional risk factor for atherogenesis in hypertensive patients? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1997; 129 (3): 300–308.

22. Feng D, Liu T, Su DF, Wang H, Ding P, Ele YH et al. The association between smoking quantity and hypertension mediated by inflammation in Chinese current smokers. *J Hypertens*. September. 2013; 31 (9): 1798-805.

23. Wei Z, Spizzo I, Diep H, Drummond GR, Widdop RE, Vinh A. Differential Phenotypes of Tissue-Infiltrating T Cells during Angiotensin II-Induced Hypertension in Mice. *PLoS One*. 2014; 9 (12).

24. Chan SH, Perussia B, Gupta JW, Kobayashi M, Pospjyysil M, Young HA, et al. Induction of inter-feron gamma production by natural killer cell sti-mulatory factor: characterization of the responser cells and synergy with other induces. *J Exp Med*. 1991; 173: 869-879.

25. Wilkinson PC, Liew FY. Chemoattraction of human blood T lymphocytes by interleukin-15. *J Exp Med*. 1995; 181: 1255-1259.

26. Alleva DG, Kaser SB, Monroy MA, Fenton MJ, Beller DI. IL-15 functions as a potent autocrine regulator of macrophage proinflammatory cytokine production: evidence for differential receptor subunit utilization associated with stimulation or inhibition. *J Immunol*. 1997; 159: 2941-2951.

27. McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, Campo M, Liew FY. Interleukin-15 mediates T cell-dependent regulation of tumor necrosis factor-alpha production in rheumatoid arthritis. *Nat Med*. 1997; 3: 189 – 195.

28. Houtkamp MA, van der Wal AC, de Boer JO, van der Loos CM, de Boer PAJ, Moorman AFM et al. Interleukin-15 expression in atherosclerotic plaques an alternative pathway for T-cell activation in atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 1208 - 1213.

29. Lim HS, Lip GYH. Interleukin-15 in Hypertension: Further Insights into Inflammation and Vascular Disease. *Am J Hypertens*. 2005; 18 (8): 1017-1018.

30. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*. 2000; 127: 117-126.

31. Sommer C, White F, Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. Cytokines, Chemokines, and Pain. *Pharmacology of Pain*. 1st Ed, Seattle, IASP Press. 2010; 279-302.
32. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45: 27-37.
33. Sun G, Gao YH, Tian DK, et al. Inflammation of different tissues in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiologica Sinica*. 2006; 58 (4): 318–323.
34. Obuchowicz A, Książewska M, Zmudzińska-Kitczak J, Urban K, Gonciarz-Majda A. Concentrations of tumour necrosis factor- α and its soluble receptors in the serum of teenagers with atherosclerosis risk factors: obesity or obesity combined with hypertension. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab*. 2014; 27(11-12): 1209-12.
35. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*. 1995; 6: 673-682.
36. Masters SA, Sheridan JP, Donahue CJ, Pitti RM, Gray CL et al. Apo-3, a new member of the tumor necrosis factor receptor family, contains a death domain and activates apoptosis and NF-kappa B. *Curr Biol*. 1996; 6 (12): 1669-1676.
37. Griffith TS, Lynch DH. TRAIL: a molecule receptors and control mechanisms. *Curr Opin Immunol*. 1998; 10 (5): 559-563.

APPENDIX

Informed consent form

INFORMED CONSENT FORM

You are invited to participate in the study **Serum levels of inflammatory mediators in essential hypertension**. Advances in research occur thanks to studies such as this one; therefore, your participation is important. You may obtain all the information relative to the study, decide not to participate in it, or quit the study at any time without any consequences for the care you receive.

The objective of this study is to compare classic inflammatory mediators and new markers associated with TNF signaling between hypertensive patients with low cardiovascular risk and normotensive controls.

You will not receive any money in exchange for your participation, but you will not have to contribute to any of the expenses associated with the study. You will be identified by a numerical code, and your name will not be used at any point in the study.

I have read and/or listened to the explanations above and understood what purpose the study serves and to which procedures I will be subjected. The explanations I was given made the study risks and benefits clear. I understand that I am free to quit the study at any time without having to explain the reasons underlying my decision and that this action will not affect my treatment. I am aware that my name will not be disclosed; I will not incur any expenses and will not receive any money in exchange for participating in the study. I agree to participate in the study.

Date.../.../.....

Signature of volunteer or legal guardian

Identity card

Signature of investigator in charge

Signature of supervising investigator

Investigators' telephone numbers: Virmondes Rodrigues Jr - Supervisor 3318-5299. Nazaré Pellizzetti Szymaniak – Co-supervisor 3318-5702. Ana Paula Mendes da Silva- 9181-0382

If you have any questions regarding this document, you may call the Research Ethics Committee (REC) of the Federal University of Minas Triangle at 3318-5854.

Instrument for data collection

1. IDENTIFICATION				
Medical record no.:				
Age:			BD: / /	
Skin color: <input type="checkbox"/> white <input type="checkbox"/> black <input type="checkbox"/> brown <input type="checkbox"/> yellow			Gender: <input type="checkbox"/> male <input type="checkbox"/> female	
2. QUESTIONNAIRE				
Hypertension: <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no Antihypertensive medication and dosage:				
Diabetes: <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no Medication: <input type="checkbox"/> oral hypoglycemic drugs <input type="checkbox"/> insulin <input type="checkbox"/> none				
High cholesterol – High triglycerides: <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no Medication: <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no				
Smoker? <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no				
First-degree relative (father-mother-siblings) infarction or stroke (men < 55 years old and women < 65 years old)? <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no				
Past history of infarction – heart surgery – stroke – angioplasty – peripheral vascular disease – heart failure – kidney failure? <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no				
3. ANTHROPOMETRIC MEASUREMENTS				
Weight	Height	BMI	WC	
4. OBPM				
mBP 24 hours	mBP awake	% Valid measurements	Repeated OBPM	
			<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	
5. CARDIOVASCULAR RISK				
<input type="checkbox"/> Low <input type="checkbox"/> Moderate <input type="checkbox"/> High <input type="checkbox"/> Very high <input type="checkbox"/> No additional risk				
6. EXCLUSION FROM STUDY and ADVERSE EVENTS				
Exclusion: <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no AE <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> quitted OBPM				