

Interrelaciones sistema renina-angiotensina/ sistema NO-GMPc

M. S. Fernández-Alfonso* y C. González García**

* Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

** Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid

El óxido nítrico (NO) y la angiotensina II (Ang II) tienen acciones opuestas sobre la contracción y sobre la proliferación y la apoptosis de las células del músculo liso vascular. Existen, además, datos que apuntan a una interrelación más profunda entre ambos factores. El NO modula de forma negativa el sistema renina-angiotensina a varios niveles, mientras que la Ang II estimula positivamente la síntesis y la liberación de NO. En esta revisión se analizan los datos que sugieren la existencia de una regulación mutua entre ambos sistemas y se discute su posible relevancia fisiológica como un mecanismo homeostático encaminado a mantener la función cardiovascular.

Introducción

En el sistema cardiovascular existe un equilibrio entre las acciones producidas por el óxido nítrico (NO) y la angiotensina II (Ang II). La Ang II es un factor vasoconstrictor y trófico, mientras que el NO es un factor vasodilatador y antiproliferativo. Desde hace tiempo se conoce que la liberación basal de NO por el endotelio reduce la vasoconstricción inducida por la Ang II y por muchos otros agentes contráctiles¹. El NO, además, inhibe la proliferación¹ y la migración² producidas por la Ang II al actuar sobre células de músculo liso vascular. Por otra parte, el NO y la Ang II tienen también efectos antagónicos sobre la apoptosis³.

Además de todos estos datos parece existir una relación más profunda entre la Ang II y el NO. El NO está emergiendo como un factor regulador del sistema renina-angiotensina (SRA) y la Ang II parece tener una función reguladora de la producción de NO. Los datos que recogemos en esta revisión sugieren que la Ang II y el NO podrían estar integrados en un mecanismo homeostático de regulación de la estructura y función vascular.

Influencias del óxido nítrico sobre el sistema renina-angiotensina

La Ang II es el principal péptido vasoactivo del SRA (fig. 1). Este péptido es el producto final de una cascada de reacciones que comienza con la hidrólisis del angiotensinógeno por la renina que origina la angiotensina I (Ang I). La Ang I se hidroliza por la enzima de conversión de angiotensina (ECA) produciendo Ang II. Las accio-

nes fisiológicas de la Ang II se transmiten en las células diana a través de la interacción con receptores específicos denominados tipo 1 (AT₁) y tipo 2 (AT₂).

La influencia que el NO ejerce sobre el SRA se puede estudiar utilizando diferentes abordajes experimentales: a) incrementando los niveles de NO de un sistema mediante donadores de NO, de NO en disolución acuosa o de su precursor, la L-arginina, o b) reduciendo los niveles de NO mediante la inhibición de su síntesis con L-NAME o eliminando el endotelio vascular. Seguidamente se analizará el estado del SRA en estas diferentes situaciones.

Efecto del óxido nítrico sobre la ECA y los receptores AT₁

Existen algunos trabajos que sugieren que el NO puede ser un modulador de la actividad de la ECA (fig. 2). Nuestro grupo⁴ ha demostrado

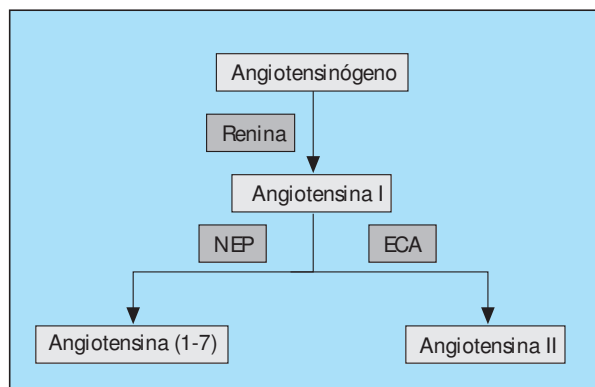
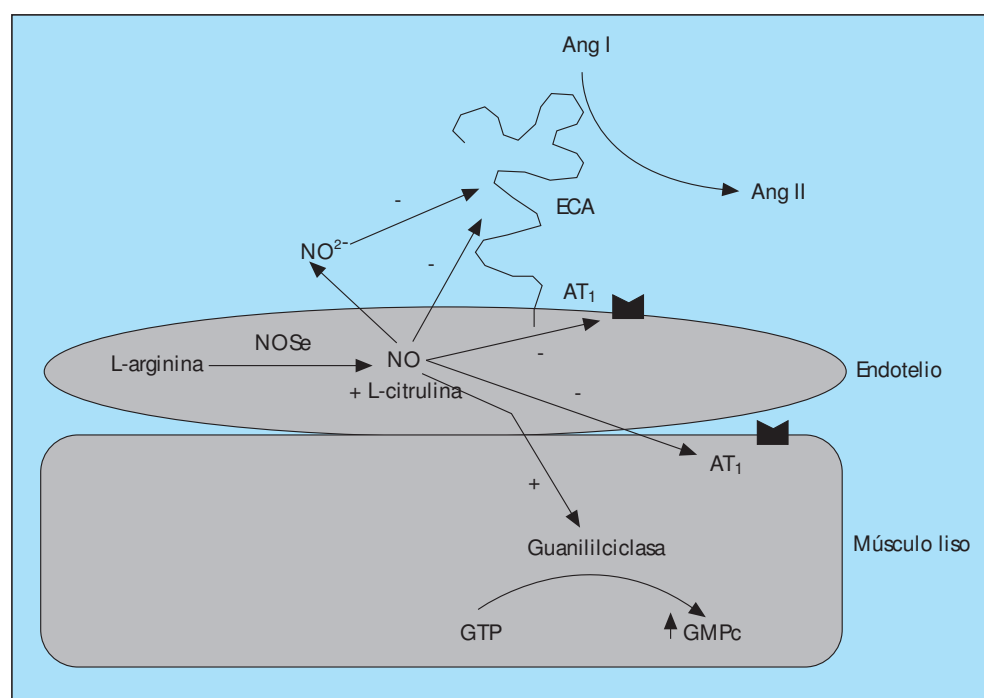


Fig. 1. Sistema renina-angiotensina. NEP: endopeptidasa neutra.

Fig. 2. Acciones del NO sobre el sistema renina-angiotensina. El NO y los NO^{2-} parecen inhibir la actividad de la enzima de conversión de angiotensina (ECA) y regular a la baja los receptores AT_1 . NO: óxido nítrico; NOSe: sintasa endotelial de óxido nítrico.



que diversos donadores de NO, así como el NO en disolución acuosa, producen una inhibición competitiva de la actividad de la ECA. El porcentaje de inhibición de los donadores osciló entre el 25 % para SIN-1 y el 80 % para DEA/NO. La inhibición de la enzima por el NO en disolución acuosa fue del 20 % que, aunque menor, es una inhibición considerable si se tiene en cuenta que la vida media del NO es de cinco segundos, mientras que el ensayo enzimático tiene una duración de 30 minutos. Otros autores también han descrito la inhibición de la actividad de la ECA por el donador de NO, nitroprusiato sódico⁵. Asimismo se ha demostrado que el precursor del NO, L-arginina administrado por vía endovenosa, reduce la actividad de la ECA y los niveles de Ang II en el plasma de voluntarios sanos⁶.

Esta inhibición de la actividad de la ECA por NO se ha descrito utilizando un sustrato sintético, empleado habitualmente en los ensayos bioquímicos. Para que este fenómeno tenga relevancia fisiológica es necesario demostrar que la inhibición se produce también cuando se utilizan los sustratos fisiológicos de la enzima, que son la Ang I y la bradicinina (BK). El efecto del NO sobre la hidrólisis de la Ang I se estudió en vasos sanguíneos⁴. Se comprobó que el NO endotelial era capaz de inhibir el efecto contráctil de concentraciones nanomolares de Ang I, las cuales están dentro del rango fisiológico de los niveles encontrados en el plasma⁴. Puesto que la Ang I no tiene acciones vasoconstrictoras por sí misma, las contracciones observadas

en estas circunstancias se debían a la conversión de Ang I en Ang II, es decir, a la actividad de la ECA. Por otra parte, en vasos desendotelizados se mimetizó el efecto del NO endotelial mediante la administración de donadores de NO. La relevancia fisiológica de este hecho es que la liberación basal de NO endotelial puede estar modulando de forma fisiológica la conversión de Ang I en Ang II. Queda por determinar el efecto del NO sobre la hidrólisis del otro sustrato natural, la BK.

Por el momento se ignora si este efecto inhibitorio sobre la ECA está mediado directamente por el NO o por sus metabolitos. Se ha demostrado que los nitritos (NO^{2-}) inducen una disfunción de la ECA^{7,8}. Otro metabolito, como el peroxinitrito (ONOO^-), que se libera mayoritariamente del SIN-1, también parece contribuir, aunque en menor medida, a la inhibición de la ECA⁴.

Aún no se conoce el mecanismo por el cual el NO inhibe la actividad de la ECA por NO. Se puede especular con la interacción del NO y/o de sus metabolitos con el centro activo de la enzima. Otro mecanismo sería la nitrosilación de residuos de tirosina y cisteína presentes en la cadena proteica de la ECA.

El NO parece regular, además, los receptores de Ang II *in vitro* (fig. 2). Cahill et al⁹ han demostrado que los donadores de NO son capaces de disminuir el número de receptores AT_1 en células de músculo liso vascular en cultivo. El mecanismo molecular subyacente parece ser la inhibición de la expresión génica de este re-

ceptor a través de una ruta diferente a la de la guanililciclasa-GMPc¹⁰. Se cree que ocurre a nivel transcripcional debido a la pérdida de una proteína de unión al ADN en el promotor del gen del receptor AT₁¹⁰.

Modelo de hipertensión inducida por L-NAME

Se ha descrito que la inhibición de la síntesis de NO durante un período largo con L-NAME provoca hipertensión arterial asociada a cambios estructurales de los microvasos (engrosamiento de la capa media y fibrosis perivascular) y del corazón (hipertrofia del ventrículo izquierdo) en ratas¹¹⁻¹⁴. Puesto que estos cambios estructurales se previenen con inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) y por antagonistas del receptor AT₁¹¹⁻¹³, se piensa en la contribución del SRA en este modelo. Michel et al¹⁵ encontraron un incremento significativo de la actividad de la ECA en la pared de la aorta tras un tratamiento de dos meses con L-NAME. Este incremento de actividad enzimática se produjo en la capa media y en la adventicia. Sin embargo, no existían cambios de actividad del ECA en el plasma. Esta observación fue confirmada por Takemoto et al¹¹ en un trabajo posterior en el que estudiaron la evolución de la actividad de la ECA durante un tratamiento de ocho semanas con L-NAME. Observaron en la aorta y en el corazón un incremento significativo de la actividad de la ECA tras una semana desde el inicio del tratamiento. No encontraron ninguna modificación de la actividad de la ECA ni en el suero, ni en el riñón o en el pulmón. Por otra parte, el aumento de actividad no parecía relacionado con un efecto inespecífico de incremento de presión arterial, puesto que también se observó en animales tratados con L-NAME más hidralazina que permanecieron normotensos durante todo el período de tratamiento. Este aumento de actividad en aorta y en corazón parece debida a una activación local, lo que sugiere una regulación diferenciada de la enzima en tejido cardiovascular en comparación con otros tejidos. Una observación relevante de este trabajo es que se encontró una correlación positiva entre la actividad de la ECA aórtica y la relación pared/luz vascular, así como entre la ECA cardíaca y el peso relativo de los corazones.

Usui et al¹⁶ han descrito recientemente que tras una semana de tratamiento con L-NAME se observaban incrementos en la expresión y densidad de los receptores AT_{1a} y AT_{1b} en la glándula adrenal de rata, independientemente de los cambios en la presión arterial. No se observaron cambios en los receptores AT₂. Por otra parte, el aumento de receptores AT₁ fue seguido de un aumento de la concentración de aldostero-

na en el plasma. En ratas espontáneamente hipertensas (SHR) el tratamiento durante una semana con L-NAME incrementó el número de receptores AT_{1b}, aunque disminuyó su afinidad¹⁷.

Modelo de denudación endotelial y formación de neointima

La denudación endotelial de arterias de rata (carótida, aorta) con un catéter de balón induce la proliferación y la migración de células de músculo liso hacia la luz del vaso, lo que da lugar a la formación, en unas dos semanas, de una nueva capa celular denominada neointima¹⁸. Puesto que el área de la neointima se reduce cuando tras la denudación endotelial se trata a la rata con IECA, se ha sugerido la participación de la Ang II en este proceso de respuesta al daño¹⁸.

Utilizando este modelo se ha descrito que la actividad de la ECA era significativamente mayor en la aorta catorce días después de la lesión, mientras que no se modificaba ni en el suero ni en el pulmón¹⁹. El estudio de la evolución de la ECA durante la proliferación de la neointima ha demostrado que tanto la expresión como la actividad de la enzima estaban incrementados dos días después de la denudación endotelial²⁰. En otros estudios se detectó inmunorreactividad a ECA a los siete días de la lesión²¹.

En el mismo modelo se ha descrito mayor número de receptores AT₁ en la capa neointima que en la capa media de la carótida de rata²². Los niveles de ARNm de receptor AT₁ comienzan a aumentar tres días después de la remoción endotelial²³.

Todos estos datos apoyan, en conjunto, la hipótesis de que el déficit de NO se traduce en una regulación al alza del SRA, que parece tener consecuencias fisiopatológicas, tanto funcionales como estructurales. Es particularmente interesante el hecho de que la ECA se incrementa en la capa media y no en el endotelio vascular. En nuestra opinión, el papel de la ECA de la capa media no es relevante si el endotelio está presente y es funcional. Sin embargo, la denudación endotelial o la falta de NO va seguida de una rápida activación de la ECA que se correlaciona con cambios estructurales. Parece que la ECA de la capa media fuera una enzima inducible bajo determinadas circunstancias, mientras que la expresión de la ECA endotelial sería constitutiva. Nosotros sugerimos que uno de los estímulos de inducción de la ECA podría ser el déficit de NO. Por otra parte, se plantea la cuestión del papel, si es que tiene alguno, de la ECA plasmática. Los datos anteriores sugieren que es la activación de la ECA tisular, y no la

plasmática, la responsable de la generación local de Ang II.

Influencia de la Ang II y de la Ang (1-7) sobre el sistema NO-GMPc

Efecto de la Ang II sobre la liberación de óxido nítrico: papel del receptor AT₁

Existen receptores AT₁ en el endotelio^{24, 25} y en el músculo liso vascular²⁶. Las contracciones inducidas por Ang II en la carótida de rata se deben a una acción simultánea sobre ambos receptores²⁷. Así, la estimulación del receptor AT₁ endotelial provoca la liberación de NO²⁷ e incrementa el contenido de GMPc vascular²⁸, que se opone a la vasoconstricción directa producida por el péptido tras su interacción con el receptor AT₁ muscular²⁷. Se han descrito resultados similares en arterias renales de resistencia²⁹ en las cuales la Ang II también produce la liberación de NO a través de la estimulación del receptor AT₁. También se ha demostrado producción de NO estimulada por Ang II en cultivos de células endoteliales³⁰ (fig. 3).

En el riñón existe evidencia indirecta de que tras la infusión de Ang II hay producción de NO, puesto que aumenta la excreción de nitritos y nitratos³¹. Además, la infusión de concentraciones supresoras de Ang II incrementa el contenido en NO de la médula y la corteza renales, efecto que se bloquea preincubando con L-NAME³². El receptor que media estas acciones no ha sido caracterizado.

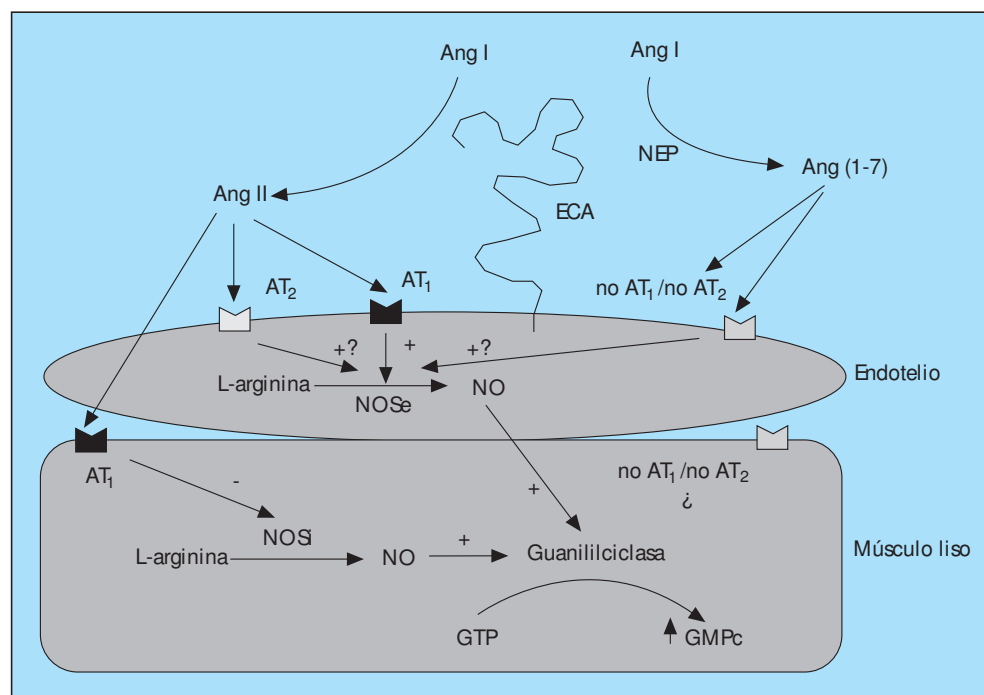
Efecto de la Ang II sobre la liberación de óxido nítrico: papel del receptor AT₂

Aunque no existe confirmación, hay evidencias indirectas que sugieren un papel del receptor AT₂ en la liberación de NO (fig. 3). La activación del SRA durante la depleción de sodio induce incrementos en los niveles de GMPc en el fluido intersticial renal, probablemente por un mecanismo desencadenado por el receptor AT₂³³. Por otra parte, el bloqueo a largo plazo del receptor AT₁ con losartán provoca un aumento de los niveles de GMPc en la aorta de ratas hipertensas que puede ser secundario a la elevación de los niveles plasmáticos de Ang II, a la estimulación de los receptores AT₂ y a la liberación de NO³⁴. Seyedi et al³⁵ han sugerido que la Ang II puede estimular la liberación de cininas a nivel local por activación del receptor AT₂, las cuales aumentarían los niveles de NO. Gohlke et al³⁶ han demostrado recientemente que la activación del receptor AT₂ por Ang II produce una estimulación de la liberación de NO dependiente de bradicinina en aorta de rata, que va seguida de un aumento subsiguiente de los niveles de GMPc.

Efecto de la Ang (1-7) sobre la liberación de óxido nítrico

La Ang (1-7) es un péptido del SRA que se produce por la endopeptidasa neutra como alternativa a la hidrólisis de Ang I por la ECA (fig. 1)³⁷. Este péptido, que se produce cuando la ECA se encuentra inhibida, produce una vasodilata-

Fig. 3. Acciones de la angiotensina II (Ang II) y de la Ang (1-7) sobre la síntesis y la liberación de NO. La estimulación del receptor endotelial AT₁ por la Ang II activa la NOS_e e induce la liberación de NO. La estimulación del receptor AT₂ provoca también el aumento de los niveles de NO, probablemente a través de un mecanismo dependiente de cininas. Un mecanismo parecido se ha propuesto para la Ang (1-7), aunque mediado a través de un receptor no AT₁-no AT₂. La activación del receptor AT₁ de la célula muscular induce la inhibición de la NOS_i. NO: óxido nítrico; NOS_e: sintasa endotelial de óxido nítrico; NOS_i: sintasa inducible de óxido nítrico; ECA: enzima de conversión de la angiotensina.



ción, dependiente de la concentración, en coronarias porcinas³⁸ y caninas^{39, 40}. El efecto dilatador parece estar mediado por la liberación de NO, probablemente debida a la liberación intermedia de cininas, a través de un receptor no AT₁-no AT₂⁴¹.

Efecto de la Ang II sobre la síntesis y actividad de la sintasa de óxido nítrico

La Ang II ejerce efectos diferentes sobre la sintasa endotelial de NO (NOS_e) y sobre la sintasa inducible de NO (NOS_i). El péptido provoca incrementos del ARNm y de la proteína de NOS_e en células endoteliales de arteria pulmonar bovina en cultivo que van seguidos de un aumento de la producción de nitritos en el medio⁴². Otros autores han propuesto que la liberación de NO estimulada por Ang II está mediada por la activación de la NOS_e dependiente de Ca²⁺/calmodulina a través de receptores AT₁⁴³. Además, las reducciones agudas de la hemodinámica renal producidas por Ang II se han asociado a una mayor expresión del ARNm de NOS_e, y las elevaciones crónicas de Ang II producen una mayor síntesis proteica de NOS_e⁴⁴. Se sabe que la Ang II es un inhibidor de la expresión de NOS_i a través del receptor AT₁. Nakayama et al⁴⁵ han demostrado que la Ang II modula de forma negativa la producción de NO estimulada por citoquinas por inhibición de la NOS_i de células de músculo liso en cultivo. El péptido también reduce los niveles del ARNm y de la proteína de NOS_i a través del receptor AT₁ en cultivos de astroglia de rata⁴⁶. Por otra parte, la Ang II producida por el endotelio inhibe la expresión de NOS_i en vasos aislados intactos⁴⁷.

Conclusiones

Existe un equilibrio entre el NO y el SRA. La Ang II es un péptido vasoconstrictor y trófico, mientras que el NO es un agente vasodilatador y antiproliferativo. En condiciones fisiológicas el NO endotelial parece modular negativamente la ECA y los receptores AT₁ en la pared vascular. Además, la Ang II puede estimular la actividad de la NOS_e y la liberación de NO que a su vez, por un efecto de retroalimentación negativa, inhibirá más la actividad de la ECA y reducirá más el número de receptores AT₁ (fig. 4). En conclusión, cuando los niveles de Ang II se incrementan, la producción de NO también se incrementa independientemente del receptor sobre el cual esté actuando el péptido. Así, el NO liberado reduce la producción de Ang II por inhibición de la ECA e inhibe las acciones de Ang II al regular a la baja los receptores AT₁. Parece que este equilibrio está controlado por

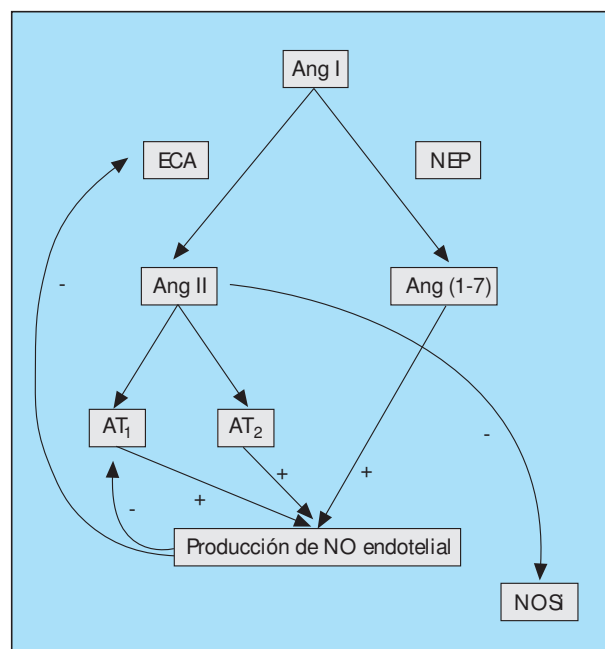


Fig. 4. Propuesta del mecanismo homeostático de interacción entre el sistema renina-angiotensina y el sistema NO/GMPC. Bajo condiciones fisiológicas, el NO endotelial parece modular negativamente la ECA y los receptores AT₁ de la pared vascular. La Ang II estimula la NOS_e y la liberación de NO, que inhibirá más la actividad de la ECA y regulará a la baja los receptores AT₁ por un efecto de retroalimentación negativa. Un déficit en la generación de NO tendrá como consecuencia un incremento de las acciones de la Ang II con consecuencias fisiopatológicas. NO: óxido nítrico; ECA: enzima de conversión de la angiotensina; Ang II: angiotensina II; NOS_e: sintasa endotelial de óxido nítrico; NOS_i: sintasa inducible de óxido nítrico.

el NO con el objeto de mantener un estado adecuado de contracción y de proliferación de la pared vascular. Cuando el endotelio está lesionado y/o la síntesis de NO deteriorada, el déficit de NO lleva a una activación del SRA que produce contracción y cambios estructurales en la pared del vaso.

Aunque no se han revisado en profundidad las acciones de la BK, no se puede olvidar el posible papel de este péptido en el mecanismo homeostático propuesto. La BK provoca la liberación de NO y por tanto efectos dilatadores y antiproliferativos a través de la estimulación de su receptor B₂⁴⁸. La BK es un buen sustrato de la ECA, que la hidroliza a péptidos inactivos⁴⁹. Una posible inhibición de la hidrólisis de BK por NO podría aumentar la vida media de la BK. Esto aumentaría la liberación de NO del endotelio y potenciaría la inhibición de la síntesis y acciones de la Ang II.

Por otra parte, la Ang II parece ser uno de los factores que reprimen la expresión y síntesis de la NOS_i. Cuando la NOS_i se activa, la producción de NO es enorme e incontrolada, como ocurre, por ejemplo, en el shock séptico. En es-

te caso, la síntesis de Ang II, así como sus acciones, se verían completamente abolidas con consecuencias deletéreas.

En conclusión, consideramos que los datos analizados en este trabajo sugieren firmemente que la Ang II y el NO están integrados en un mecanismo homeostático encaminado a mantener la estructura y la función vasculares.

Bibliografía

- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-142.
- Dubey RK, Jackson EK, Lüscher TF. Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cell. Role of cyclic nucleotides and angiotensin I receptors. *J Clin Invest* 1995; 96:141-149.
- Pollman MJ, Yamada T, Horiuchi M, Gibbons GH. Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis. Countervailing influences of nitric oxide and angiotensin II. *Circ Res* 1996; 79: 748-756.
- Ackermann A, Fernández-Alfonso MS, Sánchez de Rojas R, Ortega T, Paul M, González C. Modulation of angiotensin-converting enzyme by nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1998; 124:291-298.
- Kumar KV, Das UN. Effect of cis-unsaturated fatty acids, prostaglandins, and free radicals on angiotensin-converting enzyme activity *in vitro*. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214:374-379.
- Higashi Y, Oshima T, Ono N, Hiraga H, Yoshimura M, Watanabe M, et al. Intravenous administration of L-arginine inhibits angiotensin-converting enzyme in humans. *J Clin Endocr Metab* 1995; 80:2.198-2.202.
- Chen X, Catravas JD. Neutrophil-mediated endothelial angiotensin-converting enzyme dysfunction. Role of oxygen-derived free radicals. *Am J Physiol* 1993; 265:L243-L249.
- Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, Van der Vliet A. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998; 391:393-397.
- Cahill PA, Redmond EM, Foster C, Stizmann J. Nitric oxide regulates angiotensin II receptors in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1995; 288:219-229.
- Ichiki T, Usui M, Kato M, Funakoshi Y, Ito K, Egashira K, Takeshita A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. *Hypertension* 1998; 31:342-348.
- Takemoto M, Egashira K, Usui M, Numaguchi K, Tomita H, Tsutsui H, et al. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *J Clin Invest* 1997; 99:278-287.
- Arnal JF, Amrani AE, Chatellier G, Menard J, Michel JB. Cardiac weight in hypertension induced by nitric oxide synthase blockade. *Hypertension* 1993; 22:380-387.
- Pollock DM, Polakowsky JS, Divish BJ, Oppenorth TJ. Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric-oxide synthase inhibition. *Hypertension* 1993; 21:660-666.
- Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992; 90:278-281.
- Michel JB, Xu Y, Blot S, Philippe M, Chatellier G. Improved survival in rats administered N^G-nitro-L-arginine methyl ester due to converting enzyme inhibition. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28:142-148.
- Usui M, Ichiki T, Katoh M, Egashira K, Takeshita A. Regulation of angiotensin receptor expression by nitric oxide in rat adrenal gland. *Hypertension* 1998; 32:527-533.
- Yang Y, MacDonald GJ, Duggan KA. A study of angiotensin II receptors after chronic inhibition of nitric oxide synthase in the spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23(5):441-443.
- Powell JS, Clozel JP, Müller RKM. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science* 1989; 715:33-38.
- Rakugi H, Kim DK, Krieger JE, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Induction of angiotensin-converting enzyme in the neointima after vascular injury. Possible role in restenosis. *J Clin Invest* 1994; 93:339-346.
- Fernández-Alfonso MS, Martorana PA, Licka I, Van Even P, Trobisch D, Schölkens BA, Paul M. Early induction of angiotensin I-converting enzyme in rat carotid artery after balloon injury. *Hypertension* 1997; 30:272-277.
- Fishel RS, Thourani V, Eisenberg SJ, Shai SY, Corson MA, Nabel EG, et al. Fibroblast growth factor stimulates angiotensin converting enzyme expression in vascular smooth muscle cells. Possible mediator of the response to vascular injury. *J Clin Invest* 1995; 95:377-387.
- Viswanathan M, Strömberg C, Seltzer A, Saavedra JM. Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT₁ receptors in neointima of rat aorta. *J Clin Invest* 1992; 90:1.707-1.712.
- Iwai N, Izumi M, Inagami T, Kinoshita M. Induction of renin in medial smooth muscle cells by balloon injury. *Hypertension* 1997; 29:1.044-1.050.
- Patel JM, Yarid FR, Block ER, Raizada MK. Angiotensin receptors in pulmonary arterial and aortic endothelial cells. *Am J Physiol* 1989; 256:C987-C983.
- Pueyo M, N'Daye N, Michel JB. Angiotensin II elicits signal transduction via AT₁ receptors in endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1996; 118:79-84.
- Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45:205-251.
- Boulanger CM, Caputo L, Lévy BI. Endothelial AT₁-mediated release of nitric oxide decreases angiotensin II contractions in rat carotid artery. *Hypertension* 1995; 26:752-757.
- Caputo L, Benessiano J, Boulanger C, Lévy BI. Angiotensin II increases cyclic GMP content via angiotensin II AT₁ subtype receptors in the rat carotid artery. *Arteriosclerosis* 1995; 15:1.646-1.651.
- Thorup C, Korfelds M, Winaver JM, Goligorsky MS, Moore LC. Angiotensin II stimulates nitric oxide release in isolated perfused renal resistance arteries. *Pluegers Arch* 1998; 435:432-434.
- Pueyo ME, Arnal JF, Rami J, Michel JB. Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells. *Am J Physiol* 1998; 274:C214-C220.
- Deng X, Welch WJ, Wilcox CS. Role of nitric oxide in short term and prolonged effects of angiotensin II on renal hemodynamics. *Hypertension* 1996; 27:1.173-1.179.
- Zou AP, Wu F, Cowley AW. Protective effect of angiotensin II-induced increase in nitric oxide in the renal medullary circulation. *Hypertension* 1997; 31:271-276.
- Sragy HM, Carey RM. The subtype 2 (AT₂) angiotensin receptor mediates renal production of nitric oxide in conscious rats. *J Clin Invest* 1997; 100:264-269.
- Gohlke P, Linz W, Schölkens BA, Wiemer G, Unger T. Cardiac and vascular effects of long-term losartan treatment in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1996; 28:397-402.
- Seyedi N, Xu XB, Nasjletti A, Hintze TH. Coronary kinin generation mediates nitric oxide release after angiotensin receptor stimulation. *Hypertension* 1995; 26:164-170.
- Gohlke P, Pees C, Unger T. AT₂ receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism. *Hypertension* 1998; 31:349-355.
- Welches WR, Brosnihan KB, Ferrario CM. A comparison of the properties and enzymatic activities of three angiotensin processing enzymes: angiotensin-converting enzyme, prolyl endopeptidase and neprilysin. *Life Sci* 1993;

- 52:1.461-1.480.
38. Pörsti I, Bara AT, Busse R, Hecker M. Release of nitric oxide by angiotensin (1-7) from porcine coronary endothelium: implications for a novel angiotensin receptor. *Br J Pharmacol* 1994; 111:652-654.
39. Brosnihan KB, Li P, Ferrario CM. Angiotensin (1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension* 1996; 27:523-528.
40. Li PL, Chapell MC, Ferrario CM, Brosnihan B. Angiotensin (1-7) augments bradykinin-induced vasodilatation by competing with ACE and releasing nitric oxide. *Hypertension* 1997; 29:394-400.
41. Ferrario CM, Chapell MC, Tallant EA, Brosnihan KB, Diz DI. Counterregulatory actions of angiotensin (1-7). *Hypertension* 1997; 30:535-541.
42. Olson SC, Dowds TA, Pino PA, Barry MT, Burke-Wolin T. Ang II stimulates endothelial nitric oxide synthase expression in bovine pulmonary artery endothelium. *Am J Physiol* 1997; 273:L315-L321.
43. Saito S, Hirata Y, Emori T, Imai T, Marumo F. Angiotensin II activates endothelial constitutive nitric oxide synthase via AT₁ receptors. *Hypertens Res* 1996; 19:201-206.
44. Hennington BS, Zhang H, Miller MT, Granger JP, Reckelhoff JF. Angiotensin II stimulates synthesis of endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension* 1998; 31:283-288.
45. Nakayama I, Kawahara Y, Tsuda T, Okuda M, Yokohama M. Angiotensin II inhibits cytokine-stimulated inducible nitric oxide synthase expression in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1994; 269:11.628-11.633.
46. Chandler LJ, Kopnisky K, Richards E, Crews FT, Summers C. Angiotensin II decreases inducible nitric oxide synthase expression in rat astroglial cultures. *Am J Physiol* 1995; 268:C700-C707.
47. Montón M, López-Farré A, Mosquera JR, Sánchez de Miguel L, García-Durán M, Sierra MP, et al. Endogenous angiotensin II produced by endothelium regulates interleukin-1 β -stimulated nitric oxide generation in rat isolated vessels. *Hypertension* 1997; 30:1.191-1.197.
48. Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Schölkens BA. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev* 1995; 47:25-49.
49. Jaspard E, Wei L, Alhenc-Gelas F. Differences in the properties and enzymatic specificities of the two active sites of angiotensin I-converting enzyme (kininase II). Studies with bradykinin and other natural substrates. *J Biol Chem* 1993; 268:9.496-9.503.