

ALDOSTERONA E HIPERTROFIA DO MIOCÁRDIO

ALDOSTERONE AND MYOCARDIAL HYPERTROPHY

Mauro Cesar Isoldi¹, Aleçandra Maria Maciel Isoldi²

¹Universidade Federal de Ouro Preto – Ouro Preto (MG), Brasil.

²Colégio Arquidiocesano de Ouro Preto – Ouro Preto (MG), Brasil.

Data de entrada do artigo: 21/09/2012

Data de aceite do artigo: 22/01/2013

RESUMO

A aldosterona atua em seus tecidos alvos classicamente por ligar-se a seu receptor mineralocorticóide (MR), localizado na região externa da membrana nuclear. Uma vez ativado, o agora então formado complexo receptor-aldosterona transloca-se para o núcleo, ligando-se a regiões responsivas cognatas do DNA, vindo assim a ativar a transcrição de genes alvos. Além desse mecanismo conhecido como clássico para a aldosterona, outro mecanismo, mais rápido, envolvendo possivelmente receptores de membrana, tem sido descrito. A ativação de PLC com clivagem de fosfolipídios de membrana e conseqüentemente o aumento das concentrações de IP_3 , Ca^{2+} e AMPc vêm sendo descritos na literatura, em ensaios celulares, após adição de aldosterona. Esses mecanismos têm sido denominados de não-genômicos, ou simplesmente diretos do referido hormônio. Pacientes com aldosteronismo primário têm um aumento de risco de hipertrofia do ventrículo esquerdo quando comparados a pacientes hipertensos de severidade comparável. Porém o mecanismo de tal evento é ainda desconhecido. Trabalhos recentes têm demonstrado a participação de uma AKAP como molécula central em mecanismos que desencadeiam a hipertrofia de cardiomiócitos. Nesses trabalhos a ativação de ERK-5 além da participação de AMPc e Ca^{2+} foram predominantes no desencadear do processo hipertrófico. Nossa proposta aqui foi descrever os mecanismos intracelulares que levam as células de cardiomiócitos a desenvolverem hipertrofia mediada pela aldosterona, tanto por sua via clássica quanto pela direta ou não genômica.

Palavras-chave: aldosterona; hipertrofia; miócitos cardíacos; transdução de sinais.

ABSTRACT

The aldosterone acts on its target tissues classically by binding to its mineralocorticoid receptor (MR), located in the outer nuclear membrane. Once activated, the aldosterone-receptor complex formed translocates to the nucleus, binding to cognate responsive regions of the DNA, and promoting the transcription of target genes. Beyond this classic mechanism known to aldosterone, another mechanism, faster, possibly involving membrane receptors, has been described. The activation of PLC cleavage of membrane phospholipids and the increasing concentrations of Ca^{2+} , IP_3 and cAMP have been described in the literature, in cellular assays, after the addition of aldosterone. These mechanisms have been termed non-genomic or simply direct to the hormone. Patients with primary aldosteronism have an increased risk of left ventricular hypertrophy when compared to hypertensive patients of similar severity. However, this cellular mechanism is still unknown. Recent studies have shown the involvement of an AKAP as the central molecule in mechanisms which induce the cardiomyocyte hypertrophy. In these studies the activation of ERK-5 and the participation of cAMP and Ca^{2+} were predominant in triggering the hypertrophic process. Our purpose here was to describe the intracellular mechanisms that lead the cardiomyocyte cells to develop hypertrophy, mediated by aldosterone, both for its classical as to its direct or non-genomic pathway.

Keywords: aldosterone; hypertrophy; myocytes, cardiac; signal transduction.

1. INTRODUÇÃO

A aldosterona, o mais importante hormônio mineralocorticóide sintetizado no córtex adrenal, exerce papel essencial na homeostase de água e eletrólitos. Sua ação sobre receptores de mineralocorticóides nos rins causa retenção de sódio e subsequente aumento no volume sanguíneo. Excesso de aldosterona causa hipertensão, a qual é conhecida por ter efeitos adversos no sistema cardiovascular. Entretanto, existem evidências de que a aldosterona exerça efeitos diretos sobre o sistema cardíaco, efeitos estes independentes do aumento de pressão sanguínea. Células endoteliais respondem diretamente a mineralocorticóides com aumento de volume¹ e enrijecimento². Células cardíacas também respondem à aldosterona. Pacientes com aldosteronismo primário têm um aumento de risco de hipertrofia do ventrículo esquerdo, quando comparados a pacientes hipertensos de severidade comparável³. Adicionalmente, tem-se demonstrado que a aldosterona está envolvida na remodelação de estruturas de artérias⁴ e na disfunção endotelial⁵, independentemente de seus efeitos sobre a pressão sanguínea. Além do mais, uma produção local de aldosterona foi encontrada em tecidos outros que não o córtex adrenal, como nos vasos⁶ e no coração⁷.

No entanto, ainda não está claro o mecanismo pelo qual a aldosterona atua diretamente sobre células cardíacas. Nosso objetivo nessa revisão foi de buscar na literatura científica o que existe sobre sinalização intracelular, gerenciado pelo hormônio aldosterona, tanto por sua via direta quanto pela clássica, focando principalmente nas vias intracelulares que, quando ativadas, levam cardiomiócitos à hipertrofia.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Ação genômica da aldosterona

A aldosterona aumenta a biossíntese e/ou modula a atividade de inúmeros transportadores de membrana e outras proteínas em células renais, ação esta também identificada em cardiomiócitos^{8,9}. Após a ligação da aldosterona a seu receptor MR (*mineralocorticoid receptor*), este complexo é translocado para o interior do núcleo e liga-se aos elementos responsivos cognatos que são similares aos dos glucocorticóides, progesterona e hormônios andrógenos¹⁰⁻¹². Após a ligação ao DNA, o complexo receptor-hormônio estimula a transcrição de genes alvos. Este mecanismo é muito similar a outros hormônios esteróides¹³. Nos rins, a arginina-vasopressina (AVP) e a aldosterona contribuem para a homeostase de sal e água. A AVP atua sobre dois tipos de receptores, V1 e V2, os quais são ligados a dois distintos segundos mensageiros, Ca²⁺ e AMPc respectivamente. A aldosterona e a AVP (através do seu receptor V2) exercem

ação sinérgica sobre a reabsorção de sódio no nefro distal¹⁴, mais notadamente pela ação da Na⁺/K⁺ ATPase do ducto coletor¹⁵⁻¹⁸. No coração, um efeito conhecido da aldosterona é o aumento do número de receptores de angiotensina II (AT1) nas células cardíacas¹⁹ e o estímulo da enzima conversora de angiotensina (ACE) nos cardiomiócitos²⁰. Uma ativação anormal do sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) está diretamente correlacionada com a incidência e extensão de danos em órgãos alvo. Além do mais, foi demonstrado que o aumento crônico da concentração de aldosterona no plasma contribui para problemas pato-fisiológicos do coração²¹. Os efeitos prejudiciais da aldosterona sobre este órgão incluem a indução de inflamação vascular e lesão, hipertrofia e fibrose do miocárdio, arritmia ventricular e disfunção cardíaca^{22,23}. Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que o bloqueio da RAAS com inibidores de enzimas conversoras de angiotensina (ACE), bloqueadores do receptor de angiotensina II do tipo 1 (AT1) ou antagonistas de MR, promovem substancial proteção cardiovascular^{24,25}. Entretanto, permanecem ainda as perguntas de por que antagonistas MR possuem a capacidade de reduzir riscos de problemas cardíacos, mesmo em condições de reduzida atividade de RAAS²⁶ e de quanto o aumento da fibrose e da hipertrofia induzida pela aldosterona é mediado, através do aumento dos efeitos da angiotensina II.

2.2 Ação não-genômica da aldosterona

Estudos recentes demonstraram que a aldosterona tem um grande número de atividades fisiológicas por mecanismos que não envolvem a translocação de seu receptor ao núcleo. Estes efeitos não são explicados pelo mecanismo clássico descrito MR, que atuam sobre o genoma e por isso são chamados também de não-genômicos²⁷. Estes efeitos se caracterizam por serem extremamente rápidos (no máximo minutos), insensíveis a inibidores de transcrição (actinomicina D) e de síntese protéica (cicloexemida), e por apresentarem um perfil farmacológico diferenciado com relação ao agonismo e antagonismo²⁷. Os efeitos não genômicos mediados pela aldosterona estão associados à ativação da fosfolipase C (PLC) com subsequente hidrólise de fosfolipídios de membrana. Esta última reação libera DAG e IP₃ que por sua vez ativam proteína quinase C (PKC), e liberam Ca²⁺ do retículo, respectivamente. Ca²⁺ já é conhecido como um transmissor crucial na sinalização hipertrófica. Esta ação foi demonstrada em células da musculatura lisa vascular e em células endoteliais^{29,30}. O aumento de Ca²⁺ leva à ativação de calcineurina, uma fosfatase também conhecida por PP2B, causando morte celular por apoptose³¹. Estes mesmos autores demonstraram também a presença de receptores específicos para aldosterona em cardiomiócitos. No entanto não se sabia se estes sítios de ligação são modificações do receptor clássico de mineralocorticóides (MR) ou

se eles representam um receptor ainda não conhecido. Estudos com camundongos nocautes, para os receptores MR, demonstraram que a ação rápida da aldosterona não apenas persiste nessas linhagens, como é ainda mais pronunciada, quando comparada ao tipo selvagem, quando a resposta medida foi AMPc e Ca^{2+} intracelular³². Este estudo mostrou claramente que estas respostas rápidas envolvem um receptor diferente dos clássicos MR³². A aldosterona também causa fosforilação de várias moléculas sinalizadoras intracelulares, incluindo c-Src³³, MAP quinase, quinase regulada por sinal externo 1/2 (ERK1/2), c-Jun quinase (JNK) e p38³³⁻³⁶, além de receptores como o do fator de crescimento epidermal (EGFr)³⁷. A ativação da MAP quinase parece estar envolvida na promoção da proliferação de células da musculatura lisa vascular (VSMC) e da hipertrofia relacionada com a remodelação vascular, alterada pela hipertensão³⁸. Além disso, a aldosterona inibe a ação da NO sintase induzida (NOSi), a qual pode virtualmente contribuir com todos os efeitos cardíacos produzidos pela aldosterona³⁹.

2.3 mAKAP e hipertrofia cardíaca

Onde e quando uma enzima torna-se ativa tem profundas implicações nos processos celulares controlados por ela. Consequentemente, sofisticados mecanismos moleculares são envolvidos para regular a organização espacial e temporal das rotas de transdução de sinal⁴⁰. Proteínas “adaptadoras” formam gigantes complexos com quinases e fosfatases, dirigindo essas enzimas a locais específicos dentro da célula, disponibilizando essas “operárias biológicas” aos seus específicos substratos. O movimento dessas enzimas para dentro ou fora desses complexos contribui também na regulação temporal desses eventos de sinalização. Um bom exemplo dessas moléculas organizadoras são as proteínas adaptadoras de quinases A (AKAPs), as quais compartimentalizam a quinase dependente de AMPc (PKA), além de outras enzimas⁴⁰. Atualmente mais de 50 tipos de AKAPs já foram descobertas. Estas diferentes moléculas apresentam características em comum: possuem um domínio de ligação para PKA; um local específico de ligação na membrana seja citoplasmática seja do núcleo, onde o sinal celular efetivamente ocorrerá; e possuem a capacidade de formação de complexos com outras moléculas envolvidas na sinalização que controlam⁴⁰. Em cardiomiócitos, foi identificada uma AKAP denominada mAKAP, com peso molecular ao redor de 250kDa, localizada no envelope nuclear dessas células⁴¹. Até o momento, sabemos que os complexos formados pela mAKAP consistem de PKA, da fosfodiesterase (PDE4D3), de Ca^{2+} ativado, do receptor do canal de Ca^{2+} rianodina (RyR), das fosfatases (PP2A) e calcineurina (PP2B), da MAP quinase de alto peso molecular ERK5, do ativador de ERK5, MEK5, e Epac, um nucleotídeo guanidínico trocador de proteína

para Rap ativado por AMPc⁴²⁻⁴⁷. Em 2005, Dodge et al.⁴³ demonstraram que a ativação dessa ERK5, ancorada neste complexo coordenado pela mAKAP, induz hipertrofia em cardiomiócitos⁴³. Se podemos dizer que conhecemos um pouco sobre o mecanismo de ação da aldosterona em relação aos efeitos conhecidos ao se ligar a seu MR e os dependentes do eixo angiotensina/renina, o mesmo não podemos falar sobre sua ação direta, principalmente em células cardíacas. Aparentemente, a aldosterona atua ativando uma fosfolipase C, promovendo um aumento de IP_3 e Ca^{2+} citoplasmático. Apesar disso, alguns pontos ainda permanecem obscuros. Entre eles a da possibilidade da existência de um outro receptor além do clássico MR, atuando como transmissor do sinal da aldosterona. Alguns estudos⁴⁸⁻⁵⁰ demonstraram a ineficiência do bloqueio da resposta clássica da aldosterona por espironolactona sobre o aumento de IP_3 e Ca^{2+} , em outras células que não as cardíacas. Estes estudos são contraditórios com o que sabemos sobre a prevenção dada por baixas doses de espironolactona. A existência de outro receptor, diferente do clássico MR, poderia ajudar a responder essa possível discrepância de resultados. Além disso, não sabemos se existe ou não um *cross-talking* entre esses dois tipos de receptores, envolvendo uma resposta rápida e outra mais lenta. Essa comunicação entre as sinalizações desses dois receptores poderia explicar também a diferença encontrada sobre a ativação de AMPc em cardiomiócitos de animais nocaute para receptores MR, quando comparados à células oriundas do tipo selvagem³². A própria ativação da produção de AMPc é pouco entendida, uma vez que um número maior de estudos aponta para uma proteína Gq, mediando a resposta rápida da aldosterona. A conexão para essa modulação de AMPc pode se dar pelo aumento de Ca^{2+} , uma vez que nessas células estão expressas isoformas de adenilil ciclase (V e VI) que sabidamente são moduladas por Ca^{2+} e, portanto, sujeitas à modulação pela aldosterona⁵¹. Um outro dado relevante apontado na literatura é a ativação da ERK, apesar disso também ter sido revelado em células outras que não os cardiomiócitos. A ativação da ERK pela aldosterona, mesmo que em outras células, abre um importante precedente para que o mesmo possa estar acontecendo no coração.

2.4 Aldosterona e hipertrofia do miocárdio

Ativação da cascata da RAAS, na hipertensão, está associada com remodelamento cardíaco do ventrículo esquerdo⁵². Inicialmente, esta hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE) serve como uma resposta adaptativa ou compensatória para alguns estímulos patológicos, tais como infarto do miocárdio⁵³, hipertensão⁵⁴, e outras causas como o estresse oxidativo cardiovascular, por exemplo, e lesão de isquemia-reperfusão⁵⁵. No entanto, a HVE excessiva pode resultar em disfunção cardíaca⁵⁶. As primeiras investigações focaram nas ações de Ang II, através da ativação de

seus receptores (AT-1 e AT-2), no desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda^{57,58}, enquanto que o potencial apresentado pela aldosterona para afetar diretamente a hipertrofia cardíaca, através da ativação de seu MR, não é clara. No entanto, estudos experimentais e clínicos começaram a produzir dados que sugeriam que a aldosterona induzia à HVE e à fibrose cardíaca⁵⁹⁻⁶¹. Estes efeitos podem ser atenuados por antagonistas do receptor MR, como espironolactona ou eplerenona, indicando o envolvimento do receptor MR no processo hipertrófico^{59,62-64}. No entanto, não foi determinado se estes efeitos eram devido a uma ação direta da aldosterona ou por algum efeito secundário ligado a ela. Okoshi et al.⁶⁵ demonstraram que a aldosterona, diretamente, induzia à hipertrofia cardíaca e ao aumento da expressão de RNAm do peptídeo natriurético atrial (ANP) (um marcador molecular de hipertrofia cardíaca), em cultura de miócitos de ratos neonatais ventriculares (NRVMs), independentemente do balanço Na^+/K^+ . No entanto, antagonistas do MR, como a espironolactona, reverteram esta resposta, demonstrando que esta ação é dependente de sua ligação ao receptor MR⁶⁵. Além disso, eles descobriram ativações rápidas (≈ 5 min) da cascata da ERK1/2, JNK, MAPK e da via da PKC, reforçando a hipótese de efeitos não genômicos ligados a aldosterona, independente de sua associação ao MR. A resposta através da via genômica da aldosterona envolve dimerização do MR, dissociação das proteínas de choque térmico (pertencentes à classe das chaperonas), ao MR^{66,67} e à translocação do complexo aldosterona-MR para o núcleo. As respostas rápidas à aldosterona, por outro lado, ocorrem em um menor período de tempo e não envolvem transcrição ou tradução. Elas estão associadas à ativação da fosfolipase C (PLC) e subsequente hidrólise de fosfolípidios de membrana. Esta última reação libera DAG e IP_3 , sendo que este último libera Ca^{2+} do retículo, ativando a proteína quinase C (PKC)⁶⁸. Alguns autores também relataram a formação de AMPc por esta via³², o que indicaria, além da participação de uma proteína Gq, uma proteína Gs no processo. A hipótese de que haja uma conversa cruzada entre as vias não genômica e genômica, promovidas pela aldosterona, tornou-se relevante com a publicação do artigo “*New aspects of rapid aldosterone signaling*”, de Grossmann e Gekle⁶⁸, onde os autores demonstraram haver indícios de um *cross talking* entre essas vias. Dados da tese de mestrado de Araujo reforçam a ideia do *cross talking*⁶⁹. Com o intuito de simular a ausência de MR, cardiomiócitos primários de ratos foram tratados ou não com espironolactona. Estes tratamentos foram seguidos por ensaios comparativos, explorando-se as vias genômica e não genômica da aldosterona. Ensaios realizados na presença de espironolactona, demonstraram aumento de AMPc e Ca^{2+} nas células tratadas com aldosterona. O AMPc demonstrou ser modulado pela presença de Ca^{2+} intracelular, uma vez que seus níveis retornavam aos basais quando as células foram tratadas com BAPTA-AM (um quelante de Ca^{2+} intracelular). Células tratadas com um inibidor da ligação entre PKA e

AKAP, desativando a mesma, tiveram uma diminuição em sua resposta hipertrófica, demonstrando, pela primeira vez, a participação da mAKAP no processo hipertrófico gerado pela aldosterona. Interessantemente, ensaios de *Western blot* demonstraram a ativação de PKC, que estaria fosforilando diretamente ERK5. Evidências sugerem que uma PKC do tipo ϵ esteja promovendo essa fosforilação. Dessa forma, a ativação de ERK5 e a modulação da concentração de AMPc, principalmente, promoveriam ou não uma resposta hipertrófica, caracterizando o *cross talking* entre as possíveis vias do MR e do receptor diverso ainda desconhecido⁶⁹. Estudos recentes têm identificado mais efeitos da aldosterona sobre o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca. NRVMs estimuladas com aldosterona levam à interação do receptor MR com p300, um coativador de transcrição GATA4, envolvidos na hipertrofia cardíaca. A expressão de ANP e o aumento da área do cariomiócito foram atenuados por espironolactona⁷⁰.

Outros autores têm demonstrado que a hipertrofia mediada por aldosterona envolve uma rota dependente de MR-p38 MAPK, o que leva ao aumento da expressão da proteína cardiotropina-1, uma citocina pró hipertrófica⁷¹, bem como a expressão aumentada da proteína de hipertrofia IL-18, através de uma via Rho/Rho-quinase e PPAR/NF- κ B⁷². Finalmente, a ativação do MR da aldosterona pode aumentar a geração cardiovasculares de espécies reativas de oxigênio (ROS) via atividade oxidase da NAD(P)H⁹, que são conhecidos por induzir a hipertrofia cardíaca e o remodelamento^{73,74}. Fibroblastos cardíacos também são afetadas pela aldosterona e contribuem para a hipertrofia e remodelação por proliferação excessiva, deposição de matriz, e aumento da atividade da metaloprotease de matriz (MMP), tanto *in vitro* quanto *in vivo*^{9,75-77}. Ratos infundidos com aldosterona, com uma dieta rica em sal, apresentaram aumento da inflamação e fibrose, que foram impedidos por inibição do receptor MR^{78,79}. A expressão aumentada de moléculas pró-inflamatórias pela aldosterona, através do seu MR, pode ajudar a explicar os mecanismos potencialmente envolvidos. Por exemplo, os aumentos da expressão de TGF- β por aldosterona, via ativação do MR, promove remodelação do tecido por fibrose, e produção de proteínas da matriz⁸⁰. Curiosamente, a aldosterona reforça um *downregulation* do TGF- β , mediado pela enzima óxido nítrico sintase indutível (iNOS) e pelo óxido nítrico (NO) de uma maneira dose-dependente, através do MR³⁹. Isto parece contraditório, dado que a iNOS é pró-inflamatória, no entanto, a longo prazo a inibição da iNOS pode resultar em fibrose cardíaca, sugerindo que o NO pode desempenhar um papel na prevenção de fibrose⁸¹. Experimentos adicionais verificaram que o NO combate o ROS através da formação de peroxinitrito, o que pode também ser eficaz contra a fibrose⁸². Da mesma forma, a inibição da iNOS reduziu a relação NO/ROS, favorecendo o desenvolvimento de fibrose. Além disso, a diminuição do NO endotelial formado pela NOS, tem sido demonstrado por ter um papel central no desenvolvimento de desordens cardiovasculares⁸³ e HVE⁸⁴.

3. CONCLUSÃO

Como vimos, a aldosterona é um hormônio conhecido por promover, em determinadas condições, hipertrofia do miocárdio, com consequências diversas. Entre essas condições podemos destacar baixa concentração de AMPc e Ca^{2+} , dois importantes segundos mensageiros

que estariam diretamente envolvidos na resposta hipertrofica. Condições que favorecem a ativação de PKC também são relatadas como fundamentais para a formação do fenótipo hipertrofico. Estas condições podem ser conseguidas pela própria aldosterona, em *cross talking*, dependendo das condições momentâneas das células cardíacas.

REFERÊNCIAS

- Oberleithner H, Ludwig T, Riethmüller C, Hillebrand U, Albermann L, Schäfer C, Shahin V, Schillers H. Human endothelium: target for aldosterone. *Hypertension*. 2004 May; 43(5):952-6.
- Oberleithner H. Aldosterone makes human endothelium stiff and vulnerable. *Kidney Int*. 2005 May; 67(5):1680-2.
- Rossi GP, Sacchetto A, Visentin P, Canali C, Graniero GR, Palatini P, Pessina AC. Changes in left ventricular anatomy and function in hypertension and primary aldosteronism. *Hypertension*. 1996 May; 27(5):1039-45.
- Sun Y, Ramires FJ, Weber KT. Fibrosis of atria and great vessels in response to angiotensin II or aldosterone infusion. *Cardiovasc Res*. 1997 Jul; 35(1):138-47.
- Stier CT Jr, Chander PN, Rocha R. Aldosterone as a mediator in cardiovascular injury. *Cardiol Rev*. 2002 Mar-Apr; 10(2):97-107.
- Takeda Y, Miyamori I, Yoneda T, Iki K, Hatakeyama H, Blair IA, Hsieh FY, Takeda R. Production of aldosterone in isolated rat blood vessels. *Hypertension*. 1995 Feb; 25(2):170-3.
- Silvestre JS, Robert V, Heymes C, Aupetit-Faisant B, Mouas C, Moalic JM, Swynghedauw B, Delcayre C. Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat. *Physiological regulation*. *J Biol Chem*. 1998 Feb; 273(9):4883-91.
- Korichneva I, Pucéat M, Millanvoye-Van Brussel E, Géraud G, Vassort G. Aldosterone modulates both the Na/H antiport and Cl/HCO₃ exchanger in cultured neonatal rat cardiac cells. *J Mol Cell Cardiol*. 1995 Nov; 27(11):2521-8.
- Rude MK, Duhaney TA, Kuster GM, Judge S, Heo J, Colucci WS, Siwik DA and Sam F. Aldosterone stimulates matrix metalloproteinases and reactive oxygen species in adult rat ventricular cardiomyocytes. *Hypertension*. 2005 Sep; 46(3):555-61.
- Funder JW, Pearce PT, Smith R, Smith AI. Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Science*. 1988 Oct; 242(4878):583-5.
- Lombès M, Binart N, Oblin ME, Joulin V, Baulieu EE. Characterization of the interaction of the human mineralocorticosteroid receptor with hormone response elements. *Biochem J*. 1993 Jun; 292(Pt2):577-83.
- Binart N, Lombes M, Rafestin-Oblin ME, Baulieu EE. Characterization of human mineralocorticosteroid receptor expressed in the baculovirus system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991 Dec; 88(23):10681-5.
- Jänne OA, Palvimo JJ, Kallio P, Mehto M, Xie YB and Sui YP. Production of recombinant androgen receptor in a heterologous expression system. *Clin Chem*. 1993 Feb; 39(2): 346-52.
- Hawk CT, Li L, Schafer JA. AVP and aldosterone at physiological concentrations have synergistic effects on Na⁺ transport in rat CCD. *Kidney Int Suppl*. 1996 Dec; 50:S35-41.
- Husted RF, Laplace JR, Stokes JB. Enhancement of electrogenic Na⁺ transport across rat inner medullary collecting duct by glucocorticoid and by mineralocorticoid hormones. *J Clin Invest*. 1990 Aug; 86(2):498-506.
- Laplace JR, Husted RF, Stokes JB. Cellular responses to steroids in the enhancement of Na⁺ transport by rat collecting duct cells in culture. Differences between glucocorticoid and mineralocorticoid hormones. *J Clin Invest*. 1992 Oct; 90(4):1370-8.
- Coutry N, Farman N, Bonvalet JP, Blot-Chabaud M. Synergistic action of vasopressin and aldosterone on basolateral Na(+)-K(+)-ATPase in the cortical collecting duct. *J Membrane Biol*. 1995 May; 145(1):99-106.
- Djelidi S, Fay M, Cluzeau F, Escoubet B, Eugene E, Capurro C, Bonvalet JP, Farman N, Blot-Chabaud M. Transcriptional regulation of sodium transport by vasopressin in renal cells. *J Biol Chem*. 1997 Dec; 272(52):32919-24.
- Robert V, Heymes C, Silvestre JS, Sabri A, Swynghedauw B, Delcayre C. Angiotensin AT1 receptor subtype as a cardiac target of aldosterone: role in aldosterone-salt-induced fibrosis. *Hypertension*. 1999 Apr; 33(4):981-6.

REFERÊNCIAS

20. Wang J, Yu L, Solenberg PJ, Gelbert L, Geringer CD, Steinberg MI. Aldosterone stimulates angiotensin-converting enzyme expression and activity in rat neonatal cardiac myocytes. *J Card Fail.* 2002 Jun; 8(3):167-74.
21. Swedberg K, Eneroth P, Kjekshus J, Wilhelmsen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. *Circulation.* 1990 Nov; 82(5):1730-6.
22. Ward MR, Kanellakis P, Ramsey D, Funder J, Bobik A. Eplerenone suppresses constrictive remodeling and collagen accumulation after angioplasty in porcine coronary arteries. *Circulation.* 2001 Jul; 104(4):467-72.
23. Rocha R, Rudolph AE, Friedrich GE, Nachowiak DA, Kekec BK, Blomme EA, McMahon EG, Delyani JA. Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 Nov; 283(5):H1802-10.
24. Nagata K, Somura F, Obata K, Odashima M, Izawa H, Ichihara S, Nagasaka T, Iwase M, Yamada Y, Nakashima N, Yokota M. AT1 receptor blockade reduces cardiac calcineurin activity in hypertensive rats. *Hypertension.* 2002 Aug; 40(2):168-74.
25. Kuster GM, Kotlyar E, Rude MK, Siwik DA, Liao R, Colucci WS, Sam F. Mineralocorticoid receptor inhibition ameliorates the transition to myocardial failure and decreases oxidative stress and inflammation in mice with chronic pressure overload. *Circulation.* 2005 Feb; 111(4):420-7.
26. Nagata K, Obata K, Xu J, Ichihara S, Noda A, Kimata H, Kato T, Izawa H, Murohara T, Yokota M. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and failure in low-aldosterone hypertensive rats. *Hypertension.* 2006 Apr; 47(4):656-64.
27. Losel RM, Falkenstein E, Feuring M, Schultz A, Tillmann HC, Rossol-Haseroth K, Wehling M. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiol Rev.* 2003 Jul; 83(3):965-1016.
28. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol.* 2003; 65:45-79.
29. Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones: a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev.* 2000 Dec; 52(4):513-56.
30. Wehling M, Neylon CB, Fullerton M, Bobik A, Funder JW. Nongenomic effects of aldosterone on intracellular Ca²⁺ in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1995 Jun; 76(6):973-9.
31. Mano A, Tatsumi T, Shiraishi J, Keira N, Nomura T, Takeda M, Nishikawa S, Yamanaka S, Matoba S, Kobara M, Tanaka H, Shirayama T, Takamatsu T, Nozawa Y, Matsubara H. Aldosterone directly induces myocyte apoptosis through calcineurin-dependent pathways. *Circulation.* 2004 Jul; 110(3):317-23.
32. Haseroth K, Gerdes D, Berger S, Feuring M, Günther A, Herbst C, Christ M, Wehling M. Rapid nongenomic effects of aldosterone in mineralocorticoid-receptor-knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Dec; 266(1):257-61.
33. Callera GE, Touyz RM, Tostes RC, Yogi A, He Y, Malkinson S, Schiffrin EL. Aldosterone activates vascular p38MAP kinase and NADPH oxidase via c-Src. *Hypertension.* 2005 Apr; 45(4):773-9.
34. Krug AW, Grossmann C, Schuster C, Freudinger R, Mildenerger S, Govindan MV, Gekle M. Aldosterone stimulates epidermal growth factor receptor expression. *J Biol Chem.* 2003 Oct; 278(44):43060-6.
35. Mazak I, Fiebeler A, Muller DN, Park JK, Shagdarsuren E, Lindschau C, Dechend R, Viedt C, Pilz B, Haller H, Luft FC. Aldosterone potentiates angiotensin II-induced signaling in vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2004 Jun; 109(22):2792-800.
36. Zhang GX, Kimura S, Nishiyama A, Shokoji T, Rahman M, Yao L, Nagai Y, Fujisawa Y, Miyatake A, Abe Y. Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats. *Cardiovasc Res.* 2005 Jan; 65(1):230-8.
37. Drumm K, Kress TR, Gassner B, Krug AW and Gekle M. Aldosterone stimulates activity and surface expression of NHE3 in human primary proximal tubule epithelial cells (RPTEC). *Cell Physiol Biochem.* 2006; 17(1-2):21-8.
38. Touyz RM. Recent advances in intracellular signaling in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003 Mar; 12(2):165-74.
39. Chun TY, Bloem LJ, Pratt JH. Aldosterone inhibits inducible nitric oxide synthase in neonatal rat cardiomyocytes. *Endocrinology.* 2003 May; 144(5):1712-7.
40. Wong W, Scott JD. AKAP signalling complexes: focal points in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004 Dec; 5(12):959-70.
41. Kapiloff MS, Schillace RV, Westphal AM, Scott JD. mA-KAP: an A-kinase anchoring protein targeted to the nuclear membrane of differentiated myocytes. *J Cell Sci.* 1999 Aug; 112(Pt 16):2725-36.

REFERÊNCIAS

42. Dodge KL, Khouangsathiene S, Kapiloff MS, Mouton R, Hill EV, Houslay MD, Langeberg LK, Scott JD. mAKAP assembles a protein kinase A/PDE4 phosphodiesterase cAMP signaling module. *EMBO J*. 2001 Apr; 20(8):1921-30.
43. Dodge-Kafka L, Soughayer J, Pare GC, Carlisle Michel JJ, Langeberg LK, Kapiloff MS, Scott JD. The protein kinase A anchoring protein mAKAP coordinates two integrated cAMP effector pathways. *Nature*. 2005 Sep; 437(7058):574-8.
44. Kapiloff MS, Jackson N, Airhart N. mAKAP and the ryanodine receptor are part of a multi-component signaling complex on the cardiomyocyte nuclear envelope. *J Cell Sci*. 2001 Sep; 114(Pt17):3167-76.
45. Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Rosembliit N, Marks AR. PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell*. 2000 May; 101(4):365-76.
46. Pare GC, Bauman AL, McHenry M, Michel JJ, Dodge-Kafka KL, Kapiloff MS. The mAKAP complex participates in the induction of cardiac hypertrophy by adrenergic receptor signaling. *J Cell Sci*. 2005 Dec; 118(Pt23):5637-46.
47. Ruehr ML, Russell MA, Ferguson DG, Bhat M, Ma J, Damron DS, Scott JD, Bond M. Targeting of protein kinase A by muscle A kinase-anchoring protein (mAKAP) regulates phosphorylation and function of the skeletal muscle ryanodine receptor. *J Biol Chem*. 2003 Jul; 278(27):24831-6.
48. Estrada M, Liberona JL, Miranda M, Jaimovich E. Aldosterone- and testosterone-mediated intracellular calcium response in skeletal muscle cell cultures. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000 Jul; 279(1):E132-9.
49. Harvey BJ, Higgins M. Nongenomic effects of aldosterone on Ca²⁺ in M-1 cortical collecting duct cells. *Kidney Int*. 2000 Apr; 57(4):1395-403.
50. Christ M, Wehling M. Rapid actions of aldosterone: lymphocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Steroids*. 1999 Jan-Feb; 64(1-2):35-41.
51. Gros R, Ding Q, Chorazyczewski J, Pickering JG, Limbird LE, Feldman RD. Adenylyl cyclase isoform-selective regulation of vascular smooth muscle proliferation and cytoskeletal reorganization. *Circ Res*. 2006 Oct; 99(8):845-52.
52. Ma TK, Kam KK, Yan BP, Lam YY. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status. *Br J Pharmacol*. 2010 Jul; 160(6):1273-92.
53. Byrne JA, Grieve DJ, Cave AC, Shah AM. Oxidative stress and heart failure. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2003 Mar; 96(3):214-21.
54. Matavelli LC, Zhou X, Frohlich ED. Hypertensive renal vascular disease and cardiovascular endpoints. *Curr Opin Cardiol*. 2006 Jul; 21(4):305-9.
55. Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, Shah AM. Role of oxidative stress in cardiac remodelling after myocardial infarction. *Heart Lung Circ*. 2004 Jun; 13(2):132-8.
56. Dhalla NS, Saini-Chohan HK, Rodriguez-Leyva D, Elimban V, Dent MR, Tappia PS. Subcellular remodelling may induce cardiac dysfunction in congestive heart failure. *Cardiovasc Res*. 2009 Feb; 81(3):429-38.
57. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res*. 1993 Sep; 73(3):413-23.
58. Lorell BH. Role of angiotensin AT1, and AT2 receptors in cardiac hypertrophy and disease. *Am J Cardiol*. 1999 Jun; 83(12A):48H-52H.
59. Takeda Y, Yoneda T, Demura M, Miyamori I, Mabuchi H. Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats. *Hypertension*. 2000 Oct; 36(4):495-500.
60. Kagiya S, Matsumura K, Fukuhara M, Sakagami K, Fujii K, Iida M. Aldosterone-and-salt-induced cardiac fibrosis is independent from angiotensin II type 1a receptor signaling in mice. *Hypertens Res*. 2007 Oct; 30(10):979-89.
61. Matsumura K, Fujii K, Oniki H, Oka M, Iida M. Role of aldosterone in left ventricular hypertrophy in hypertension. *Am J Hypertens*. 2006 Jan; 19(1):13-8.
62. Suzuki G, Morita H, Mishima T, Sharov VG, Todor A, Tanhehco EJ, Rudolph AE, McMahon EG, Goldstein S, Sabbah HN. Effects of long-term monotherapy with eplerenone, a novel aldosterone blocker, on progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with heart failure. *Circulation*. 2002 Dec; 106(23):2967-72.
63. Hayashi M, Tsutamoto T, Wada A, Tsutsui T, Ishii C, Ohno K, Fujii M, Taniguchi A, Hamatani T, Nozato Y, Kataoka K, Morigami N, Ohnishi M, Kinoshita M, Horie M. Immediate administration of mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone prevents post-infarct left ventricular remodeling associated with suppression of a marker of myocardial collagen synthesis in patients with first anterior acute myocardial infarction. *Circulation*. 2003 May; 107(20):2559-65.

REFERÊNCIAS

64. Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, Zannad F, Phillips RA, Roniker B, Kleiman J, Krause S, Burns D, Williams GH. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation*. 2003 Oct; 108(15):1831-8.
65. Okoshi MP, Yan X, Okoshi K, Nakayama M, Schuldt AJ, O'Connell TD, Simpson PC, Lorell BH. Aldosterone directly stimulates cardiac myocyte hypertrophy. *J Card Fail*. 2004 Dec; 10(6):511-8.
66. Yang J, Chang CY, Safi R, Morgan J, McDonnell DP, Fuller PJ, Clyne CD, Young MJ. Identification of ligand-selective peptide antagonists of the mineralocorticoid receptor using phage display. *Mol Endocrinol*. 2011 Jan; 25(1):32-43.
67. Dooley R, Harvey BJ, Thomas W. Non-genomic actions of aldosterone: from receptors and signals to membrane targets. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 Mar; 350(2):223-34.
68. Grossmann C, Gekle M. New aspects of rapid aldosterone signaling. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 Sep; 308(1-2):53-62.
69. Araujo CM. Ação direta da aldosterona em cardiomiócitos de ratos. Tese [Mestrado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Ouro Preto; 2010.
70. Yoshida Y, Morimoto T, Takaya T, Kawamura T, Sunagawa Y, Wada H, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K. Aldosterone signaling associates with p300/GATA4 transcriptional pathway during the hypertrophic response of cardiomyocytes. *Circ J*. 2010 Jan; 74(1):156-62.
71. López-Andrés N, Iñigo C, Gallego I, Díez J, Fortuño MA. Aldosterone induces cardiotrophin-1 expression in HL-1 adult cardiomyocytes. *Endocrinology*. 2008 Oct; 149(10):4970-8.
72. Doi T, Sakoda T, Akagami T, Naka T, Mori Y, Tsujino T, Masuyama, Ohyanagi M. Aldosterone induces interleukin-18 through endothelin-1, angiotensin II, Rho/Rho-kinase, and PPARs in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Sep; 295(3):H1279-87.
73. Mohammed SF, Ohtani T, Korinek J, Lam CS, Larsen K, Simari RD, Valencik ML, Burnett JC Jr, Redfield MM. Mineralocorticoid accelerates transition to heart failure with preserved ejection fraction via "nongenomic effects". *Circulation*. 2010 Jul; 122(4):370-8.
74. Stas S, Whaley-Connell A, Habibi J, Appesh L, Hayden MR, Karuparthi PR, Qazi M, Morris EM, Cooper SA, Link CD, Stump C, Hay M, Ferrario C, Sowers JR. Mineralocorticoid receptor blockade attenuates chronic overexpression of the renin-angiotensin-aldosterone system stimulation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and cardiac remodeling. *Endocrinology*. 2007 Aug; 148(8):3773-80.
75. Brilla CG, Matsubara LS, Weber KT. Antifibrotic effects of spironolactone in preventing myocardial fibrosis in systemic arterial hypertension. *Am J Cardiol*. 1993 Jan; 71(3):12A-16A.
76. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol*. 1994 Jul; 26(7):809-20.
77. Campbell SE, Janicki JS, Weber KT. Temporal differences in fibroblast proliferation and phenotype expression in response to chronic administration of angiotensin II or aldosterone. *J Mol Cell Cardiol*. 1995 Aug; 27(8):1545-60.
78. Brilla CG, Weber KT. Mineralocorticoid excess, dietary sodium, and myocardial fibrosis. *J Lab Clin Med*. 1992 Dec; 120(6):893-901.
79. Rocha R, Martin-Berger CL, Yang P, Scherrer R, Delyani J, McMahon E. Selective aldosterone blockade prevents angiotensin II/salt-induced vascular inflammation in the rat heart. *Endocrinology*. 2002 Dec; 143(12):4828-36.
80. Marney AM, Brown NJ. Aldosterone and end-organ damage. *Clin Sci (Lon)*. 2007 Sep; 113(6):267-78.
81. Pechánová O, Bernátová I, Pelouch V, Babál P. L-NAME-induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res*. 1999; 48(5):353-62.
82. Ferrini MG, Vernet D, Magee TR, Shahed A, Qian A, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Antifibrotic role of inducible nitric oxide synthase. *Nitric Oxide*. 2002 May; 6(3):283-94.
83. Carlström M, Persson AE, Larsson E, Hezel M, Scheffer PG, Teerlink T, Weitzberg E, Lundberg JO. Dietary nitrate attenuates oxidative stress, prevents cardiac and renal injuries, and reduces blood pressure in salt-induced hypertension. *Cardiovasc Res*. 2011 Feb; 89(3):574-85.
84. Hunter JC, Zeidan A, Javadov S, Kilic A, Rajapurohitam V, Karmazyn M. Nitric oxide inhibits endothelin-1-induced neonatal cardiomyocyte hypertrophy via a RhoA-ROCK-dependent pathway. *J Mol Cell Cardiol*. 2009 Dec; 47(6):810-8.

Endereços para correspondência:

Mauro Cesar Isoldi
mauroisoldi@hotmail.com

Aleçandra Maria Maciel Isoldi
biologiaale@yahoo.com.br