

ASPECTOS DO ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO NOS MÚSCULOS ESQUELÉTICO, CARDÍACO E LISO. ALTERAÇÕES DO MÚSCULO LISO VASCULAR NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

JOSÉ GERALDO MILL, DALTON VALENTIM VASSALLO

A contração muscular é um processo essencial para a sobrevivência dos organismos mais evoluídos. Para cada função a ser exercida por determinado momento, vamos encontrar uma estrutura contrátil melhor adaptada à sua execução. Classicamente, os músculos dos vertebrados têm sido classificados em categorias: esquelético, cardíaco e liso. Essa classificação, morfofuncional em sua origem, apresenta problema ao se estudarem os mecanismos de regulação da contração, uma vez que dentro da categoria de “músculo” liso são englobadas estruturas musculares bastante diversas. Neste artigo serão abordados alguns aspectos do acoplamento excitação-contração (AEC) dos músculos esquelético, cardíaco e liso. Será dada ênfase à regulação da contração do músculo liso vascular, para que possam ser apresentados e discutidos alguns dados relacionados a possíveis alterações do AEC nesse tipo de músculo, cursando com o desenvolvimento da hipertensão arterial.

O AEC pode ser definido como a seqüência de eventos que ocorre entre a excitação da membrana de uma fibra muscular e sua conseqüente contração. O termo “excitação” da membrana refere-se tanto aos eventos elétricos como aos químicos que aí podem ocorrer. Essa generalização faz-se necessária porquanto todas as fibras musculares, estriadas ou lisas, podem ser excitadas por um potencial de ação (PA). Mas, além disso, as células musculares estriadas ou lisas também podem desencadear contração em seqüência a estímulos químicos (ligação de agonistas em receptores de membrana). Tais estímulos não determinam, obrigatoriamente, modificações do potencial de membrana.

Como será visto adiante, qualquer que seja o mecanismo de excitação das miocélulas, ele tem como finalidade aumentar os níveis de cálcio livre no citoplasma (Ca^{+2}). Esse íon irá desencadear processos físico-químicos no meio intracelular, que culminarão com a produção da contração muscular. Portanto, os íons Ca^{+2} servem como mensageiros entre eventos que se processam na superfície da membrana externa e as proteínas contráteis, mergulhadas no citoplasma das fibras musculares.

DADOS MORFOLÓGICOS

Para compreender-se adequadamente o AEC nos diversos tipos de músculo, há necessidade de conhecer a estrutura de alguns componentes celulares mais diretamente envolvidos nesse processo.

Túbulos T ou sistema transverso

As fibras musculares possuem, além da membrana superficial, dois outros sistemas de membrana de vital importância para o AEC: os túbulos T e o retículo sarcoplasmático (RS).

Os túbulos T consistem de invaginações da membrana superficial que se aprofundam na célula até as proximidades dos sarcômeros. Portanto, a luz dos túbulos T conecta-se com o meio extracelular e a sua membrana é contínua com a membrana superficial (fig. 1). A presença desse sistema de túbulos é essencial para a ativação rápida e sincrônica das fibras musculares, onde a relação superfície/volume é pequena. Em conseqüência, observa-se um sistema T bem desenvolvido nos músculos esquelético e cardíaco, notadamente no primeiro. Em células musculares pequenas, por outro lado, tais como as células musculares lisas vasculares e os miócitos do coração de rã (diâmetro de apenas 3 a μ), não são encontrados túbulos T^{2,3}.

Retículo sarcoplasmático

Consiste numa rede de cisternas intracelulares que se dispõem longitudinalmente ao longo das miofibrilas (fig. 1). Essas cisternas sofrem dilatações nas regiões onde se aproximam dos túbulos T ou da membrana superficial e acumulam grande quantidade de Ca^{+2} no seu interior, graças à ação de um sistema enzimático que bombeia ativamente o Ca^{+2} do citoplasma para o interior das vesículas. Esse sistema transportador (Ca-Mg-ATPase) é capaz de gerar um gradiente de concentração de Ca^{+2} através da membrana do M da ordem de 10.000 vezes⁴. Como os níveis de $(Ca^{+2})_i$ nas células musculares em repouso se situam na faixa de $10^{-7}M$, pode-se calcular a concentração de Ca^{+2} intravesicular como sendo da

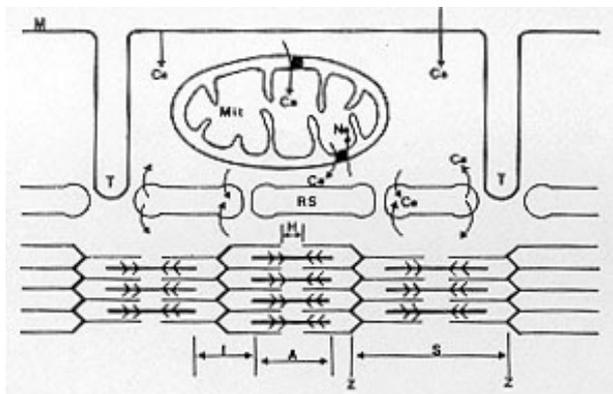


Fig.1 - Esquema simplificado das principais organelas celulares envolvidas na contração muscular. A membrana superficial (M) forma invaginações que se aprofundam no citoplasma de fibras musculares estriadas: são os túbulos T. Esses estabelecem relação com vesículas do retículo sarcoplasmático (RS), cuja função é acumular Ca^{+2} . As miofibrilas são constituídas pelo encadeamento em série de sarcômeros (S), delimitados por duas linhas Z. A disposição típica das proteínas contráteis nos filamentos grossos (miosina) e finos (actina) gera as bandas I e A dos sarcômeros, além do disco H. Observar as projeções dos miofilamentos grossos em direção aos finos. Tais projeções fazem partes das moléculas de miosina, e estão envolvidas na formação de pontes de actina-miosina. As mitocôndrias (Mit) também participam da homeostase do Ca^{+2} nas células. seu papel torna-se mais importante em estados de hipóxia.

ordem de 10^{-3}M , um pouco menor que o encontrado no meio extracelular ($2 \text{ a } 3 \times 10^{-3}\text{M}$).

A parte mais profunda dos túbulos T estabelece relação com uma ou duas vesículas laterais do RS (díades e tríades, respectivamente). Entre a membrana do túbulo T e a do RS existe um espaço de cerca de 200 Å. À microscopia eletrônica de alta resolução, observa-se que tal espaço é ocupado por um material eletrodensso que forma "pontes" ou "pés" conectando as duas estruturas da membrana⁵. Acredita-se que essas pontes seriam importantes no processo de liberação do Ca^{+2} armazenado no RS, quando a membrana do túbulo T sofre despolarização, o que ocorre durante um PA.

Conclui-se que a presença do sistema T garante uma liberação rápida e sincrônica do Ca^{+2} armazenado nas vesículas do RS, mesmo quando elas estão situadas a distâncias variáveis da membrana superficial. Isso é essencial para a ativação sincrônica de sarcômeros de fibras musculares que possuem um diâmetro grande. Tais fibras, possuindo uma grande quantidade de RS e um sistema T bem desenvolvido, tornam-se relativamente independentes do Ca^{+2} externo para a ativação de sua maquinaria contrátil porque, nesse caso, a maior parte do Ca^{+2} ativador da contração será proveniente de depósitos intracelulares^{6,7}. Nessas fibras, a inibição da corrente de Ca^{+2} da membrana superficial com cátions divalentes (Mn^{+2} , Co^{+2}) não afeta o abalo muscular ou a contratura potássica. Tais fibras podem contrair-se por um longo período em meio isento de Ca^{+2} .

Nas fibras musculares lisas, pobres em RS e sem túbulos T, grande parte do Ca^{+2} ativador da contração vem do meio extracelular, devendo atravessar a membrana como uma corrente lenta de Ca^{+2} , que é desencadeada pela

excitação elétrica (PA) ou química da célula^{2,7}. Em consequência, tais fibras são altamente vulneráveis face às variações do Ca^{+2} externo e a intervenções que modificam a corrente de Ca^{+2} .

No coração observa-se uma situação intermediária. Calcula-se que cerca da metade do Ca^{+2} ativador da contração seja proveniente do meio extracelular atravessando a membrana como uma corrente lenta de Ca^{+2} . O restante do íon necessário à plena ativação da maquinaria contrátil seria proveniente de estoques intracelulares, dos quais o principal parece ser o RS. Portanto, o miocárdio também apresenta grande sensibilidade ao Ca^{+2} externo e aos agentes que modificam a corrente lenta de Ca^{+2} .

Estruturas contráteis

Grande parte do volume citoplasmático das fibras musculares é ocupado por organelas contráteis, denominadas miofibrilas. Essas se dispõem de modo organizado no músculo estriado, gerando o padrão característico de faixas transversais (estrias), alternadamente claras e escuras, que podem ser visibilizadas à microscopia óptica com contraste de fase e de polarização. Cada miofibrila é constituída pelo encadeamento em série de milhares de sarcômeros, a unidade contrátil do músculo estriado (fig. 1). Esses apresentam uma disposição típica de suas proteína e, quando visibilizados ao microscópio eletrônico, apresentam bandas claras e escuras A constituição química dessas bandas está bem estabelecida.

A banda I (isotrópica) é formada pelos miofilamentos finos que se unem na porção mediana da banda, gerando a linha. Os filamentos finos são constituídos de 3 proteínas: actina, tropomiosina e troponina. A primeira tem função contrátil, e as duas outras, função regulatória. A actina possui sítios ativos capazes de interagir com a miosina. Em repouso, essa interação não se processa porque os sítios são mantidos inibidos pela tropomiosina. Conseqüentemente, no repouso, a tensão contrátil desenvolvida pelo músculo é nula. A troponina, por sua vez, é uma proteína composta de 3 subunidades⁹: a unidade C possui um sítio de ligação com o Ca^{+2} ; a unidade T liga-se à tropomiosina; a unidade I inibe a atividade ATPásica da actomiosina.

A banda A (anisotrópica) é formada apenas por miofilamentos grossos na região central da banda (disco H) e pela região de superposição dos filamentos grossos e finos nas regiões laterais da banda. À microscopia eletrônica de alta resolução, são observadas projeções que partem dos filamentos grossos em direção aos filamentos finos. Cada uma dessas projeções é uma parte da molécula de miosina que contém a atividade ATPásica⁹.

Um grande número de trabalhos realizados com o intuito de determinar a função de cada um desses componentes no processo de contração do muscular permitiu que a contração do músculo estriado fosse descrita pela seguinte seqüência de eventos¹⁰: 1) eleva-

ção do $(Ca^{+2})_i$ livre no citoplasma; 2) ligação do Ca^{+2} da troponina, produzindo uma modificação conformacional na molécula protéica; 3) essa modificação faz com que a molécula de tropomiosina seja deslocada de sua posição de “repouso”, ocorrendo então liberação do sítio ativo da actina; 4) Interação dos sítios ativos da actina com a miosina, formando-se o complexo actomiosina; 6) esse complexo, como possui atividade ATPásica, hidrolisa o ATP e a energia livre do processo é usada no deslocamento da ponte de miosina para um outro sítio de interação com a actina; 7) a queda dos níveis de $(Ca^{+2})_i$ livre no citoplasma traz como consequência a dissociação do complexo Ca-troponina, iniciando-se então o processo de relaxamento.

O ciclo descrito acima é um pouco diferente no músculo liso. Sabe-se que a maquinaria contrátil do músculo liso é constituída pelas mesmas proteínas contráteis (actina nos filamentos finos e miosina nos grossos). O encurtamento seria gerado como resultado de um movimento cíclico das pontes que se estendem da miosina para a actina^{2,7} Existem diferenças, entretanto, com relação aos mecanismos de regulação da contração. Inicialmente, ao que parece, não existe troponina no músculo liso. Essa é substituída por uma outra proteína, a calmodulina, que ao ligar-se com a Ca^{+2} inicia a seqüência de reações que culminarão com a contração¹¹. Além disso, a miosina do músculo liso deve sofrer uma fosforilação prévia à sua interação com a actina¹².

A figura 2 apresenta um esquema das principais etapas necessárias à ocorrência da contração no músculo liso vascular. Observa-se que a elevação do $(Ca^{+2})_i$, a exemplo do músculo estriado, também constitui uma etapa inicial e necessária para o desencadeamento da contração. Inicialmente, o Ca^{+2} liga-se à calmodulina, formando-se, reversivelmente, o complexo Ca-calmodulina. Esse complexo irá ativar uma quinase ligada à cadeia leve da miosina, ocorrendo então uma fosforilação da miosina. Essa fosforilação é essencial à contração, porque só as moléculas de P-miosina podem interagir com a actina, formando as pontes necessárias ao processo de deslizamento das moléculas e encurtamento das estruturas contráteis¹³. A desfosforilação do complexo P-miosina é feita por uma fosfatase também ligada à cadeia leve da miosina¹². A hidrólise da ligação P-miosina desfaz as alterações actina-miosina, ocorrendo então o relaxamento. Sabe-se que a velocidade de formação das pontes actina-miosina e, portanto, a velocidade de encurtamento do músculo liso depende do grau de fosforilação da miosina¹⁴. Dessa forma, a modulação da atividade da miosina-quinase pode influenciar de modo decisivo o comportamento contrátil do músculo liso. Quando essa enzima não está inibida (pelo AMPc, como veremos adiante), o passo limitante para a ativação da contração são os níveis de $(Ca^{+2})_i$.

A atividade da miosina-quinase é fortemente dependente dos níveis intracelulares do AMPc. O mecanismo de inibição da enzima ainda não foi esclarecido com detalhes, mas tal fato tem grande significado prático, uma vez que explicaria o relaxamento produzido em alguns tipos de músculo liso (vasos e brônquios) pela ativação

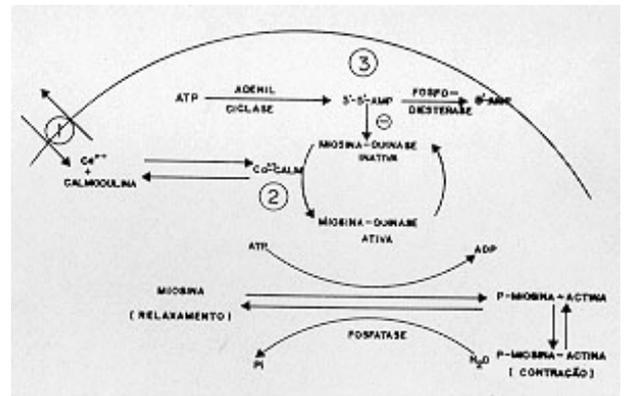


Fig.2 - Etapas bioquímicas de contração do músculo liso vascular (para explicações mais detalhadas, ver o texto). Com os números 1, 2 e 3 estão assinaladas as etapas onde a contração pode ser modulada através de drogas usadas atualmente.

da adenilciclase (via receptores beta-adrenérgicos) ou pela inibição da fodiesterase¹⁵. Nessas células a elevação dos níveis do AMPc dificultaria a ativação da contração, mesmo estando elevados os níveis de $(Ca^{+2})_i$. Esse processo regulatório não é encontrado no músculo estriado.

De acordo com o esquema apresentado na figura 2, a modulação da contração do músculo liso pode ser feita em três níveis diferentes: 1) controlando-se os níveis de $(Ca^{+2})_i$; 2) modulando-se a formação do complexo Ca-calmodulina, ou a atuação desse complexo na ativação da miosina-quinase; 3) influenciando-se as cinéticas de formação e degradação do AMPc.

Paralelamente, o relaxamento do músculo liso também pode ser induzido ou modulado por três processos: 1) diminuindo-se os níveis de $(Ca^{+2})_i$; 2) inativando-se a miosina-quinase; 3) promovendo-se a desfosforilação da P-miosina, o que normalmente é feito pela fosfatase miosínica.

REGULAÇÃO DOS NÍVEIS DE CÁLCIO INTRACELULAR

Muitos fatores que influem no comportamento contrátil das fibras musculares interferem, de alguma forma, com a cinética de regulação dos níveis de Ca^{+2} nas células. Os níveis de $(Ca^{+2})_i$ correlacionam-se diretamente com o grau de tensão do músculo. Em repouso, o $(Ca^{+2})_i$ situa-se em valores inferiores a $10^{-7}M$ e, nesse nível, nenhuma tensão ativa é desenvolvida. Elevando-se o $(Ca^{+2})_i$ para valores em torno de 5×10^5M , níveis máximos de tensão ativa são produzidos, tanto no músculo liso como no estriado^{16,17}. A elevação do $(Ca^{+2})_i$ é obtida pela mobilização do Ca^{+2} externo (nesse caso o íon deve atravessar a membrana) e/ou do Ca^{+2} interno (seqüestrado em organelas intracelulares como o RS, face interna da membrana celular ou mitocôndrias). Portanto, quando uma célula é estimulada, poderá haver tanto um aumento da permeabilidade da membrana ao Ca^{+2} como um “sinal” para que haja liberação desse íon a

partir dos sítios onde ele é armazenado no meio intracelular. Os dois processos podem ocorrer de modo independente ou, como é mais comum, conjuntamente. Assim, por exemplo, quando a noradrenalina se liga a receptores alfa-adrenérgicos vasculares, ocorre um componente contrátil inicial rápido dependente da liberação de Ca de sítios intracelulares (provavelmente Ca ligado à membrana). Logo após, observa-se um componente contrátil tônico dependente da mobilização de Ca^{+2} do meio extracelular¹⁸. A separação desses componentes pode ser obtida com o uso de um bloqueador de canais de Ca, os quais promovem a inibição apenas do componente tônico da contração¹⁹.

Os fatores que influenciam na distribuição do Ca^{+2} nas células são múltiplos. A fig. 3 esquematiza esses fatores em células musculares. Isso será discutido a seguir.

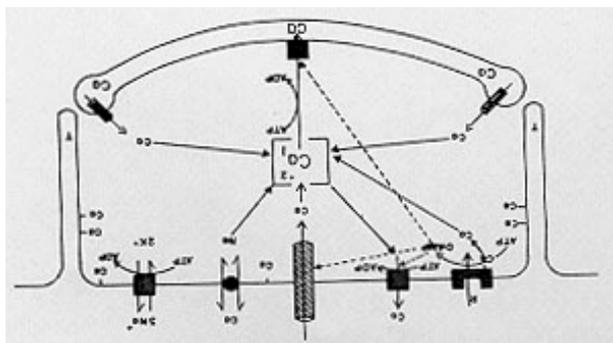


Fig.3 - Processos envolvidos na homeostase do Ca^{+2} no citoplasma das células musculares. Como se observa, múltiplos sistemas são acionados para a regulação do Ca^{+2} . Estão esquematizados, no nível da membrana superficial (da esquerda para a direita), os canais de Ca^{+2} receptor-dependentes que podem produzir influxos de Ca^{+2} oriundo do espaço extracelular, ou liberar Ca^{+2} previamente fixado à membrana celular; a bomba de Ca^{+2} promove extrusão ativa desse íon do citoplasma; os canais de Ca^{+2} voltagem-dependentes são acionados durante a despolarização da membrana; a troca Na-Ca pode operar nos dois sentidos, principalmente em função da concentração do Na intracelular, dependente, em grande parte, do funcionamento da bomba de Na/K (à direita). No retículo sarcoplasmático (RS) tem-se uma bomba que acumula Ca^{+2} na organela e canais de Ca^{+2} que se abrem para liberar esse Ca^{+2} para o citoplasma durante a excitação celular. Observar que o AMP-c ativa o influxo de Ca^{+2} nas células (pelos canais de Ca^{+2} voltagem-dependentes) como a retirada desse íon do meio intracelular (linhas tracejadas). Em consequência, a elevação do AMP-c promove um transiente de elevação de Ca^{+2} .

Fibra muscular em repouso

Em todas as células existe um alto gradiente eletroquímico favorável à entrada passiva de Ca^{+2} para o citoplasma, a partir do meio extracelular. Como esse gradiente é praticamente constante, a magnitude do influxo de Ca^{+2} nas células irá depender da permeabilidade da membrana a esse íon. Essa não é uniforme em diferentes tipos celulares, a partir de quantificações realizadas em presença de inibidores metabólicos. Nesse caso, há um aumento linear nos níveis de $(Ca^{+2})_i$ com o tempo. A inclinação da reta dará a permeabilidade passiva da membrana ao íon. Observa-se, por exemplo, que as células musculares lisas de diferentes territórios vasculares possuem graus variáveis de permeabilidade ao Ca^{+2} ¹⁹. Isso explica, em parte, a existência de um tono basal,

elevado em determinados vasos quando perfundido “in vitro”. Não se sabe ainda o significado desse fato, ao analisar-se o comportamento dos vasos no organismo inteiro.

Para compensar essa contínua entrada de Ca^{+2} nas células, existem três sistemas que operam no sentido de transportar esse íon contra o seu gradiente eletroquímico²⁰. Um deles bombeia o Ca^{+2} para fora das células; outro transporta o Ca^{+2} para o interior do RS. Ambos os sistemas de transporte são ativados pelo AMPc. Um terceiro mecanismo, ainda menos conhecido, seqüestra o Ca^{+2} no interior das mitocôndrias. Esse estaria ligado ao mecanismo de geração de energia nas mitocôndrias. Quando o influxo passivo e a extrusão ativa dos íons Ca^{+2} operam em equilíbrio, os níveis de $(Ca^{+2})_i$ são mantidos praticamente constantes ao longo do tempo. É o que ocorre quando as fibras musculares estão em repouso e são normalmente supridas de oxigênio.

Ativação das fibras musculares

A excitação elétrica da membrana superficial das fibras musculares pode produzir dois tipos de respostas elétricas ativas: a) um PA, que é uma resposta do tipo tudo-ou-nada; b) uma resposta graduada, cuja amplitude é proporcional à intensidade do estímulo.

A excitação química de uma fibra muscular pode produzir ou não modificações do potencial elétrico da membrana. Quando isso ocorre, é mais comum o desencadeamento de respostas graduadas.

As respostas do tipo a são encontradas no músculo esquelético de contrarrio fásica, no músculo cardíaco e em alguns tipos de músculo liso. As respostas do tipo b são observadas em fibras estriadas de contração tônica (a maioria delas em invertebrados) e em muitos tipos de músculo liso. Para a produção da contração, em ambos os casos, vários mecanismos podem ser acionados para produzir aumento de $(Ca^{+2})_i$, como veremos a seguir.

Abertura de canais de cálcio na membrana superficial-Dois tipos de canais de cálcio estão localizados na membrana superficial: os canais de cálcio voltagem-dependentes (também chamados de canais lentos de cálcio) e os canais de cálcio operados por receptores.

Quando ocorre despolarização da membrana, abrem-se os canais voltagem dependentes, havendo então aumento da condutância da membrana ao Ca^{+2} ²¹. Em consequência, haverá influxo de Ca^{+2} nas células, de acordo com o gradiente eletroquímico através da membrana. A magnitude da corrente de Ca^{+2} (I_{Ca}) é dada pela relação: $I = g (E - E_{Ca}^{ca})$ onde: g = condutância de membrana ao Ca^{+2} ; E = potencial de membrana; E_{Ca}^{ca} = potencial de equilíbrio eletroquímico do Ca^{+2} na membrana.

Observa-se que, mesmo mantendo-se o termo $(E - E_{Ca}^{ca})$ constante, a magnitude da I não é uniforme em diferentes tecidos musculares, uma vez que a g , também não é uniforme. No músculo esquelético de contração fásica, a I_{Ca} , apesar de existente, é mui-

to pequena, pouco contribuindo para a morfologia do PA²². Portanto, o influxo do Ca^{+2} externo produzido diretamente durante a ocorrência do PA pouco contribui para a elevação do $(\text{Ca}^{+2})_i$. Já no coração a I tem grande importância, sendo um componente essencial para a configuração do platô do PA e para a ativação da contração^{20,21,23}. Cálculos indiretos, realizados em fibras de Purkinje, permitem inferir que cerca de 50% do cálcio total necessário à plena ativação da contração cardíaca vem do meio extracelular, através da I ⁸. Essa a razão pela qual os bloqueadores dos canais de Ca^{+2} , ao deprimirem a I , exercem paralelamente um potente efeito inotrópico negativo no miocárdio²⁴. Ao contrário, praticamente não afetam a contratilidade da musculatura esquelética.

O músculo liso vascular possui um determinado tono basal. Esse pode ser mantido (como a nível arteriolar) ou variar ciclicamente (como nas veias porta e mesentérica). O tono basal depende tanto da atividade miogênica intrínseca como da descarga tônica de noradrenalina pelos terminais simpáticos². A atividade miogênica, observada em muitos tipos de músculo liso, é produzida pela ativação cíclica dos canais de cálcio voltagem-dependentes, gerando potenciais de ação lentos semelhantes aos observados nos nódulos cardíacos. O tono dependente da atividade miogênica intrínseca é fortemente deprimido pelos bloqueadores dos canais de cálcio^{24,25}. Ora, ao quantificar-se o tono basal de diferentes territórios vasculares, observa-se que a participação relativa da atividade miogênica intrínseca e da descarga simpática não é uniforme. Essa a razão pela qual os bloqueadores dos canais de cálcio não produzem uma redução equitativa da resistência vascular em diferentes territórios do organismo^{25,26}. Assim, por exemplo, o tono basal dos vasos da pele é, em grande parte, dependente da atividade simpática, razão pela qual é pequena a queda da resistência nessa circulação em presença de verapamil²⁵. Ao contrário, os bloqueadores dos canais de cálcio são muito potentes em produzir vasodilatação coronária, uma vez que nessa circulação é muito importante a participação da atividade miogênica na determinação da resistência vascular²⁷.

O funcionamento dos canais de cálcio operados por receptores é mais complexo. Eles influenciam os níveis de $(\text{Ca}^{+2})_i$ nos músculos cardíaco e liso. Sabe-se que a ligação de um agonista ao seu receptor pode produzir aumento de $(\text{Ca}^{+2})_i$ de diversos modos²⁸, tais como: promovendo despolarização da membrana (com conseqüente ativação dos canais de cálcio voltagem-dependentes); deslocando diretamente o Ca^{+2} previamente ligado à membrana; diminuindo a captura de cálcio por organelas celulares, como o RS e a própria membrana celular²⁷. Sabe-se que as substâncias que produzem vasoconstrição, como a noradrenalina, serotonina, angiotensina, vasopressina, etc., atuam em receptores específicos da membrana, mas mobilizam Ca^{+2} para o citoplasma de modo não uniforme. Essa a principal razão pela qual os bloqueadores dos canais de cálcio, que deprimem de modo mais específico e potente

a I , nem sempre são eficazes ao bloquear a contração produzida pela ativação dos canais de cálcio operados por receptores.

Liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático - ORS acumula grande quantidade de Ca^{+2} no seu interior e a mobilização desse Ca^{+2} para o citoplasma tem papel muito importante na ativação da contração. Os dados que tentam explicar como o Ca^{+2} reticular é mobilizado no AEC são, em grande parte, referentes a estudos realizados nos músculos esquelético e cardíaco. Pouco se sabe sobre o funcionamento do RS no músculo liso. Admite-se que, nessa estrutura, a pequena quantidade de RS faz com que o papel dessas organelas seja menos importante para o AEC². Ao contrário, o RS é a mais importante fonte de Ca^{+2} para a ativação da contração no músculo esquelético de contração fásica e bastante importante no miocárdio.

Duas teorias tentam explicar o mecanismo de liberação do Ca^{+2} vesicular durante a excitação celular⁴. Uma delas, proposta por Chandler e col³⁰, postula a existência de um acoplamento elétrico entre os túbulos T e as vesículas do RS. As “pontes” existentes entre as membranas de T e da RS seriam essenciais para produzir um movimento de cargas nessa junção, durante a ocorrência do PA, determinando a abertura dos canais de cálcio nas vesículas do RS. O Ca^{+2} fluiria então para o citoplasma a favor de seu gradiente eletroquímico. Essa teoria tem recebido maior suporte a partir de dados colhidos em músculo esquelético^{4,22}.

Outra teoria propõe um mecanismo de retroalimentação positiva para a abertura dos canais de cálcio do “3n. Segundo essa teoria (“Ca-induced Ca-release”), uma pequena entrada de Ca^{+2} nas células (durante o PA ou por um estímulo químico) produziria uma elevação de $(\text{Ca}^{+2})_i$ suficiente para promover a abertura dos canais de cálcio da membrana do RS. Conseqüentemente, o efluxo de Ca^{+2} para o citoplasma, produziria uma elevação adicional de $(\text{Ca}^{+2})_i$, fazendo a retroalimentação positiva no sistema. Essa teoria tem recebido maior confirmação a partir de experimentos realizados em fibras cardíacas desnudas (“skinned fibres”). Entretanto, muitas dúvidas persistem com relação à operação desse mecanismo no músculo íntegro.

Até aqui não pode ser descartada a idéia de que os dois mecanismos propostos acima atuem em paralelo. O conhecimento detalhado do processo é muito importante, porque abriria espaço para o desenvolvimento de drogas que, atuando a esse nível, pudessem interferir no inotropismo cardíaco. Sabe-se que, em alguns tipos de insuficiência cardíaca, o sistema de captura e liberação do Ca^{+2} pelo RS funciona inadequadamente, e não há condições de corrigi-lo à luz dos conhecimentos atuais nesse campo.

Troca Na^{+} - Ca^{+2} - A importância das trocas Na^{+} - Ca^{+2} na distribuição de íons através da membrana celular vem dos trabalhos pioneiros de Niedegerke e Reuter e col. mostrando que a perfusão do músculo

lo cardíaco³² ou liso vascular³³, com soluções isentas de Na⁺, promove um aumento da tensão contrátil e acúmulo de Ca²⁺ no meio intracelular. Hoje está demonstrada a existência de um mecanismo de troca Na⁺-Ca²⁺ em um grande número de células. Essa troca pode operar nos dois sentidos³⁴. Assim, quando os níveis intracelulares de Na⁺ são normais, o sistema funciona no sentido de produzir extrusão do íon Ca²⁺, trabalhando em paralelo com as demais bombas de cálcio citadas anteriormente^{20,35}. Ao contrário, quando há aumento do Na⁺ intracelular, passa a ocorrer extrusão do Na⁺, com concomitante influxo de Ca²⁺ na célula³⁶. Há, portanto, tendência à elevação do (Ca²⁺)_i. A presença da troca Na⁺ - Ca²⁺ parece ser muito importante para o comportamento contrátil dos músculos cardíaco e liso, notadamente no caso de haver aumento dos níveis Intracelulares de Na⁺, como ocorre, por exemplo, em presença dos digitálicos;³⁷. A inibição da (Na⁺ + K⁺) - ATPase, produzindo progressivo aumento de (Na⁺)_i, ativa a troca Na⁺- Ca²⁺ no sentido de aumento do (Ca²⁺)_i. Como veremos adiante, tem-se proposto que a inibição da bomba de (Na⁺ + K⁺) por um fator humoral poderia explicar a origem da hipertensão arterial em cepas de ratos que se tornam espontaneamente hipertensos à medida que envelhecem (cepa SHR). Dados preliminares sugerem que esse fator também poderia estar implicado no desenvolvimento da hipertensão arterial do tipo essencial no homem^{38,39}.

Cálcio ligado à face interna da membrana - O glicocálix e as faces externa e interna da membrana celular possuem sítios aniônicos capazes de fixar cátions como o Na⁺, H⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, etc. O grau de ocupação desses sítios pelo Ca²⁺ influencia diversos mecanismos de distribuição desse íon nos compartimentos celulares e nas características da contração^{35,40}.

Recentemente tem despertado interesse a existência de sítios de fosfatidil-serina localizados na face interna da membrana, pois esses sítios possuem uma afinidade pelo Ca²⁺ que é dependente da voltagem transmembrana⁴¹. Quando a membrana está submetida à sua polarização normal (cerca de -80 mV, no miocárdio), tais sítios possuem alta afinidade pelo Ca²⁺, um K_d = 3 x 10⁻⁸M⁴². Com a despolarização ocorre uma enorme diminuição de afinidade, tendo-se medido um K_d entre 10⁻⁵ e 10⁻³M em membranas isoladas^{43,44}. Esses dados precisam de uma confirmação mais explícita em outros grupos celulares, pois sugerem a existência de um movimento pendular de Ca²⁺ durante o PA: na despolarização, o Ca²⁺ ligado à face interna da membrana seria liberado para o citosol, contribuindo para a elevação de (Ca²⁺)_i; com a repolarização o Ca²⁺ do citosol voltaria a se ligar à membrana, contribuindo para o início do relaxamento o papel desse movimento de Ca²⁺ para a contração ainda não foi quantificado. Mas a idéia atual é que haveria vários "pools" de Ca²⁺ ligado à membrana, cada um deles podendo sofrer a influência de agentes específicos, como variações de voltagem, agonista atuando em receptores, etc.

MODULAÇÃO DA CONTRAÇÃO DO MÚSCULO VASCULAR

É muito grande o número de fatores que influenciam o comportamento contrátil dos vasos (fig. 4). O mecanismo de ação da maioria desses fatores ainda é pouco conhecido. De igual modo, é também grande o número de drogas que interferem no tono vascular. A maioria delas atua em uma das três etapas da contração do músculo liso vascular assinaladas na figura 2.

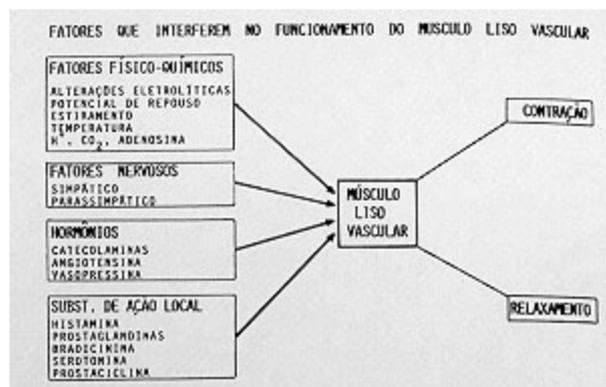


Fig.4 - Listagem dos principais agentes endógenos que influenciam o grau de contração da musculatura lisa vascular.

Formação e funcionamento do complexo Ca-Calmodulina

A calmodulina é uma proteína de baixo peso molecular (16.500) presente, ao que parece, em todas as células eucarióticas. Funciona como elo de ligação entre o aumento de (Ca²⁺)_i e a ativação de uma série de progressos enzimáticos citoplasmáticos⁴⁵. No músculo liso, a calmodulina faz o papel de intermediário entre a elevação de (Ca²⁺)_i e a ativação das proteínas contráteis (fig. 2), à semelhança do papel efetuado pela troponina no músculo estriado. Como consequência, a contração do músculo liso vascular será deprimida pelo bloqueio da ligação do Ca²⁺ com a calmodulina ou se o complexo Ca-calmodulina não ativar a enzima miosina-quinase. Alguns vasodilatadores parecem atuar nessa etapa da contração, como as fenotiazinas que, ligando-se à calmodulina, impedem a ativação da miosina-quinase⁴⁶. Dados atuais sugerem que as difenil-alquilaminas (fendilina, prenilamina, perhexilina, cinarizina, etc.) também poderiam interferir na formação do complexo Ca-calmodulina⁴⁷, daí a seletividade dessas drogas na produção de vasodilatação. Por esse efeito, as difenil-alquilaminas produzem pequena depressão da contratilidade miocárdica, apesar de bloquearem também os canais de cálcio voltagem-dependentes do miocárdio²⁴.

Níveis Intracelulares do AMP-cíclico

No músculo liso vascular, o AMPc promove inibição da miosina-quinase, provavelmente por determinar fosforilação na enzima¹⁵, interrompendo a sequência de eventos que irá produzir a contração (fig.

2). Dessa forma, a ativação da adenilciclase (estimulação dos receptores beta adrenérgicos) ou a inibição fosfodiesterase (xantinas), aumenta os níveis de AMPc e produz relaxamento em vários tipos de músculo liso, como nos brônquios e na árvore arteriolar⁴⁸.

Modulação nos níveis de (Ca²⁺)_i

Como visto anteriormente, múltiplos fatores estão envolvidos na regulação dos níveis de (Ca²⁺)_i. Os agentes químicos que atuam em receptores da membrana, como a noradrenalina e a serotonina, promovem transientes de elevação do cálcio citoplasmático. Isso significa que haveria necessidade de um estímulo permanente para que houvesse estabilização do (Ca²⁺)_i em níveis superiores aos normais. Essa a razão pela qual a manutenção do tônus arteriolar pela atividade simpática só ocorre em havendo uma descarga praticamente contínua de noradrenalina nos terminais nervosos da musculatura vascular. Entretanto, essa descarga mantida do mediador químico não parece produzir uma estimulação máxima da musculatura indefinidamente, tendo em vista o desenvolvimento de hiporreatividade dos receptores pós-sinápticos⁴⁹. Por outro lado, acredita-se que variações na concentração do sódio intracelular (Na⁺)_i poderiam determinar alterações mais permanentes na distribuição do Ca²⁺ nas células. Dentro dessa linha de raciocínio, Blaustein (1977) propôs que os níveis de (Ca²⁺)_i seriam determinados, a longo prazo, pelos fatores representados na equação abaixo:

$$(Ca^{2+})_i = e \times \frac{(Na^+)_i^3}{(Na^+)_e^3} \times \exp \frac{-EMF}{RT} \text{ onde}$$

F, R e T são, respectivamente, a constante de Faraday, a constante dos gases e a temperatura absoluta. De acordo com a equação 2 teríamos uma elevação mantida de (Ca²⁺)_i nos seguintes casos: elevação do cálcio extracelular (Ca²⁺)_e, elevação do (Na⁺)_i e queda do potencial de repouso das células (Em).

Do ponto de vista fisiopatológico, acredita-se que alterações permanentes do Em e da distribuição do Na⁺ nas células musculares lisas vasculares poderiam estar implicadas na gênese de certos tipos de hipertensão arterial.

ALTERAÇÕES DO ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

A resistência vascular periférica total está aumentada na maioria dos modelos experimentais e nos casos clínicos de hipertensão arterial. Uma vez que as células musculares lisas são os efetores dessa resistência vascular aumentada, pode-se afirmar que o funcionamento do músculo liso vascular é anormal na hipertensão arterial. Tal afirmativa é feita a partir de observações realizadas ao se compararem as propriedades do músculo liso vascular de animais hipertensos e normotensos. Tais investigações visam a identificar a origem das alterações da fisiologia do músculo

liso vascular na hipertensão.

Os estudos realizados até aqui indicam que tanto as proteínas contráteis como a regulação da contração ao nível da interação actina-miosina funcionam normalmente nos vasos de animais hipertensos¹⁶. Por outro lado, acumulam-se dados experimentais sugestivos de que os mecanismos de homeostase do Ca²⁺ estão alterados em animais com diferentes modelos de hipertensão arterial. As causas dessas perturbações na distribuição do Ca²⁺ ainda não foram devidamente esclarecidas. Um grupo de pesquisadores acredita que o defeito primário estaria localizado na membrana das células musculares lisas¹⁹. Outros sugerem a existência de um fator hormonal circulante que produziria alterações na distribuição de Na⁺ nas células, afetando, em consequência, os níveis de (Ca²⁺)_i de modo mais permanente^{38,39}.

A primeira hipótese é sustentada por uma série de achados mostrando que a sensibilidade ao Ca²⁺ dos vasos de animais hipertensos é maior que nos controles normotensos^{50,51}. Esses achados são provenientes de experimentos realizados tanto em ratos com hipertensão espontânea (SHR), como na hipertensão dependente da administração de corticosteróides (DOCA sal), ou da constricção da artéria renal (modelo de Goldblatt). Sugere-se que essa maior sensibilidade ao Ca²⁺ poderia ser consequente a um aumento da permeabilidade passiva ao íon na membrana das células musculares lisas. Entretanto, o aumento da permeabilidade ao Ca²⁺ poderia ser consequência do processo hipertensivo e não causa.

Outras alterações funcionais dos vasos de animais hipertensos foram também detectadas. Zweifach (1983) relatou a existência de maior sensibilidade a agentes vasoconstritores (noradrenalina) e uma hipossensibilidade a vasodilatadores (acetilcolina) em artérias de ratos com hipertensão experimental⁵². Também a frequência de descargas espontâneas é maior na musculatura dos vasos de animais hipertensos, em relação aos controles normotensos^{50,53}. Isso poderia explicar a maior sensibilidade dos vasos de animais hipertensos aos bloqueadores dos canais de cálcios. Sabe-se que uma dose fixa de verapamil reduz a pressão arterial de animais hipertensos a valores inferiores àqueles observados em controles normotensos⁵⁴. Em repouso, há muitos dados sugestivos da existência de alterações na membrana celular de animais com hipertensão arterial, promovendo modificações na distribuição e/ou mobilização do Ca²⁺ durante o AEC. Entretanto, a confirmação dessa hipótese, ou a sua rejeição, mesmo que parcial, requer dados mais conclusivos.

Os autores que propõem a existência de um fator circulante como agente causal da hipertensão arterial “espontânea” (ratos SHR ou hipertensão essencial humana) partem do achado experimental de que nos animais hipertensos existe um funcionamento deficiente da bomba de (Na + K)⁵⁵. Recentemente foi dado um reforço muito grande a essa hipótese, ao demonstrar-se que no plasma de pacientes com hipertensão arterial essencial existe um fator que deprime a atividade da (Na + K) ATPase do rim de cão “in

vitro"³⁸. Mostrou-se ainda que o grau de inibição da bomba se correlaciona positivamente com os níveis de pressão arterial do doador do plasma trabalhando com ratos SHR. Cheung¹⁶ mostrou que a elevação progressiva da pressão arterial nesses animais se correlaciona temporalmente com a diminuição da atividade da bomba de (Na + X) e com a queda do potencial de repouso das fibras musculares lisas da artéria da cauda. Ora, sabe-se que nessas células a bomba de (Na + K) tem grande importância na manutenção do potencial de repouso. Acredita-se que cerca de 25% do valor do potencial de repouso se deve à extrusão ativa de Na+ pela (Na + K) ATPase de membrana¹⁶. Os outros 75% seriam determinados pelos gradientes eletroquímicos originários da permeabilidade seletiva da membrana, de acordo com o proposto pela equação de Goldman⁵⁷. Há, portanto, dados teóricos e experimentais que sugerem que a inibição da bomba de (Na + K) na musculatura lisa vascular poderia participar da gênese do processo hipertensivo.

Pelas idéias e fatos expostos acima, observa-se que a compreensão da origem e do modo dos distúrbios de distribuição do Ca²⁺ em nível celular e subcelular é de fundamental importância para a elucidação da etiopatogenia da hipertensão arterial. Somente através desse processo se poderá chegar a um tratamento da causa e não dos efeitos, na maioria dos indivíduos portadores de doença hipertensiva.

REFERÊNCIAS

1. Suarez-Kurtz, G. - Acoplamento excitação-contração em músculo esquelético. In Lacaz-Vieira, F.; Malnic, G. - Biofísica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1981. p. 251.
2. Somlyo, A. P. - Vascular smooth muscle. In Narahashi, T. - Cellular Pharmacology of Excitable Tissues. Charles, C. Thomas, Illinois, 1975. p. 360.
3. Fabiato, A. - Calcium release in skinned cardiac cells: variations with species, tissues and development. Fed. Proc. 41: 2238, 1982.
4. Mortonosi, A. N. - Sarcoplasmic reticulum. Physiol. Rev. 64: 1240, 1984.
5. Armstrong, C. F. - Membrane particles and transition at the triad. Ped. Proc. 34: 13112, 1975-
6. Sandow, A. - Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Pharmacol. Rev. 17: 265, 1965.
7. Stull, J. T.; Sanford, C. F. - Differences in skeletal, cardiac, and smooth muscle contractile element regulation by calcium. In Weiss, G. B. - New Perspectives on Calcium Antagonists, American Physiological Society, Bethesda, 1981. p. 35.
8. Isenberg, G. - Cardiac Purkinje fibers. Resting, action and pacemaker potentials under the influence of Ca as modified by intracellular injection techniques. Pflugers Arch. 371: 51, 1977.
9. Viena, A. L. - Contração muscular. In Lacaz-Vieira, F. e Malnic, G. - Biofísica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1981. p. 278.
10. Vassalo D. V.; Mill, J. G.; Costa, A. L. - Contração cardíaca. I. Bases ultra-estruturais e acoplamento excitação-contração. Arq. Bras. Cardiol. 39: 181, 1982.
11. Adelstein, R. S.; Hathaway, D. R. - Role of calcium and cyclic adenosine, 3'-5'-monophosphate in regulating smooth muscle contraction. Am. J. Cardiol. 44: 783, 1979.
12. Hartshome, O. J.; Siemankowski, R. F. - Regulation of smooth muscle actomyosin. Ann. Rev. Physiol. 43: 519, 1981.
13. Sobieszek, A.; Small, J. V. - Regulation of actin-myosin interaction in vertebrate smooth muscle: activation via myosin light-chain kinase and the effect of tropomyosin. J. Molec. Biol. 112: 559, 1977.
14. Murphy, R. A.; Aksoy, M. O.; Dillon, P. P.; Gerthotter W. T.; Kamm, K. E. - The role of myosin light-chain phosphorylation in regulation to the cross-bridge cycle. Fed. Proc. 42: 51, 1983.
15. Adelstein, R. S.; Conti, M. A.; Hathaway, D. R.; Klee, C. B. - Phosphorylation of smooth muscle myosin light chain kinase by the catalytic subunit of the adenosine 3'-5', monophosphate-dependent protein kinase. J. Biol. Chem. 253: 8347, 1978.
16. Blaustein, M. P. - Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypotasis. Am. J. Physiol. 232: C165, 1977.
17. Filo, R. S.; Bohr, D. F.; Ruegg, J. C. - Glycerinated skeletal and smooth muscle: calcium and magnesium dependence, Science. 147: 1581, 1972.
18. Brodie, D. C.; Bohr, D. P.; Smit, J. - Dual contractile response of the aorta strip. Am. J. Physiol. 197: 241, 1959.
19. Bohr, D. F.; Webb, R. C. - Vascular smooth muscle function and its changes in hypertension. Am. J. Med. 77: 3, 1984.
20. Shamo, A. E.; Ambudkar, I. S. - Regulation of calcium transport in cardiac cells. Can. J. Physiol. Pharmacol. 62: 9, 1914.
21. Reuter, H. - Calcium channel modulation by neurotransmitter enzymes and drugs. Nature, 301: 59, 1983.
22. Caputo, C. - Excitation and contraction processes in muscle. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 7: 63, 1978.
23. Beeler, G. W.; Reuter, H. - The relation between membrane potential, membrane currents and activation of contraction in ventricular myocardial fibres. J. Physiol. 207: 29, 1970.
24. Fleckenstein, A. - Specific pharmacology of calcium in myocardium. cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17: 149, 1977.
25. Vanhoutte, P. M. - Differential effects of calcium entry blockers on vascular smooth muscle. In Weiss, G. B. - New Perspectives on Calcium Antagonists. American Physiological Society, Bethesda, 1981, p. 109.
26. Mikkelsen, E.; Anderson, K. E.; Lederballe, O. - The effect of nifedipine on isolated human peripheral vessels- Acts Pharmacol. Toxicol. 43: 291, 1978.
27. Cauvin, C.; Loutenhiser, R.; Van Breemen, C. - Mechanisms of calcium antagonist-induced vasodilation. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23: 273, 1983.
28. Harder, D. V. - Heterogeneity of membrane properties in vascular muscle cells from various vascular beds. Fed. Proc. 42: 253, 1983.
29. Weiss, G. B. - Sites of action of calcium antagonists in vascular smooth muscle. In Weiss, G. B. - New Perspective on Calcium Antagonists. American Physiological Society, Bethesda, 1981. p. 83.
30. Chandler, W. K.; Rakowski, R. F.; Schneider, M. F. - A non-linear voltage dependent charge movement in frog skeletal muscle. J. Physiol. 254: 245, 1976.
31. Fabiato, A.; Fabiato, F. - Calcium and excitation-contraction coupling. Annu. Rev. Physiol. 41: 473, 1979.
32. Niedegerke, R. - Movements of Ca in frog heart ventricles at rest and during contractions. J. Physiol. 167: 515, 1963.
33. Reuter, H.; Blaustein, M. P.; Haeusler, G. - Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle. Trans-Roy. Soc. Lond. Ser. B. 265: 87, 1973.
34. Blaustein, M. P. - The interrelationship between sodium calcium fluxes across cell membranes. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 70: 33, 1974.
35. Chapman, R. A. - Excitation-contraction coupling in cardiac muscle. Prog. Biophys. Molec. Biol. 35: 1, 1979.
36. Baker P. F.; Blaustein, M. P.; Hodgkin, A. L.; Steinhardt R. A. - The influence of calcium on sodium efflux in squid axons. J. Physiol. 200: 431, 1969.
37. Langer, G. A. - Calcium in mammalian myocardium. Localization, control and the effects of digitalis. Circ. Res. (Supl. III): 34-35: III91, 1974.
38. Hamlyin J. M.; Ringel, R.; Shaeffer, J.; Levinson, P.; Hamilton B. P.; Kowarski, A. A.; Blaustein, M. P. - A circulating inhibitor of (Na + K) ATPase associated with essential hypertension. Nature 300: 650, 1982.

39. Blaustein, M. P.; Hamlyn, J. M. - Sodium transport inhibition, cell calcium and hypertension. *Am. J. Med.* 77: 45, 1984.
40. Langer, G. A. - Kinetics and calcium distribution in ventricular muscle of the dog. *Circ. Res.* 15: 393, 1964.
41. Lullman, H.; Peters, T.; Preuner, J. - Role of the plasmalemma for calcium homeostasis and for excitation-contraction coupling in cardiac muscle. In Drake-Holland, A. J. and Noble, M. I. M. - *Cardiac Metabolism*- John Wiley & Sons, New York, 1983. p. 1.
42. Lullman, H.; Peters, T. - Plasmalemmal calcium and cardiac excitation-contraction coupling. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 4: 49, 1977.
43. Lullman, H.; Peters, T. - Action of cardiac glycosides on the excitation-contraction coupling in heart muscle. *Prog. Pharmacol.* 2: 1, 1979.
44. Pang, D. C. - Effect of inotropic agents on the calcium binding to isolated sarcolemma. *Biochim. Biophys. Acta.* 598: 528, 1980.
45. Tomlinson, A.; Macneil, S.; Walker, S. W.; Ollis, C. A.; Merritt, J. E.; Brown, B. L. - Calmodulin and cell function *Clin. Sci.* 66: 497, 1984.
46. LaPort, D. E.; Wierman, B. N.; Storm, D. R. - Calcium induced exposure of hydrophobic surface of calmodulin *Biochemistry*, 19: 3814, 1980.
47. Spedding, M. - Calcium antagonists subgroups- *Trends Pharmacol. Sci.* 6: 109, 1985.
48. Stuil, J. T.; Silver, P. J.; Miller, J. R.; Blumenthal, D. K.; Botherman, B. R.; Klug, G. A. -Phosphorilation of myosin light chain in skeletal and smooth muscle *Ped. Proc.* 42: 21, 1983.
49. Vasquez, E. C.; Cabral, A. M. - Alterações adaptativas cardíacas na hipertensão arterial. *Arq. Bras. Cardiol.* 42: 419, 1984.
50. Winquist, R. J.; Bohr, D. F. - Structural and functional changes in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 5: 292, 1983.
51. Harris, A. L.; Swamy, V. C.; Triggle, D. J. - Calcium reactivity and antagonism in portal veins from spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: 146, 1984.
52. Zweifach, Z. W. - The microcirculation in experimental hypertension: state-of-art review hypertension. 5 (suppl. 1): 10, 1983.
53. Holloway, T. E.; Bohr, D. F. - Reactivity of vascular smooth muscle in hypertensive rats. *Circ. Res.* 33: 678, 1973.
54. Vasquez, E. C.; Mill, J. G.; Cabral, A. M. - Effects of verapamil on blood pressure and heart rate in neurogenic hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* 105: 215, 1984.
55. Overbeck, H. W.; Pamnani, M. B.; Akera, T.; Brody, T. M.; Haddy, F. J. - Depressed function of a ouabain-sensitive sodium potassium pump in blood vessels from renal hypertensive dogs. *Circ. Res.* 38 (suppl. II): 48, 1976.
56. Cheung, D. W. - Membrane potential of vascular smooth muscle and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: 957, 1984.
57. Hodgkin, A. L.; Katz, B. - The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* 109: 240, 1949.