

## FUNDAMENTOS BIOQUÍMICOS DA MODULAÇÃO DO TONO VASCULAR

PAULO HENRIQUE WAIB, ROBERTO CARLOS BURINI  
Botucatu, SP

Tono vascular é o grau de constrição mantido pelo vaso sanguíneo. Baseado na fonte de estímulo, o tono pode ser dividido em dois componentes: extrínseco e intrínseco<sup>1</sup>. O extrínseco ocorre pela ação do sistema simpático adrenérgico, hormônios e peptídeos vasoativos sobre o músculo liso vascular; é o principal gerador do tono arteriolar e portanto, da resistência periférica, influenciando assim, de maneira preponderante nos níveis de pressão arterial. O intrínseco depende da atividade miogênica mantida pelo estiramento da parede vascular promovido pelo fluxo sanguíneo. O componente passivo do tono vascular exercido pelas fibras elásticas da adventícia só é importante nos vasos de condução. A inervação colinérgica simpática existente nos vasos de resistência não tem ação direta sobre o músculo liso vascular. A influência colinérgica no tono vascular ocorre através da modulação da atividade adrenérgica e endotelial<sup>2</sup>. O endotélio vascular está em íntimo contato físico e funcional com o músculo liso vascular. Nos vasos de resistência, as chamadas junções endoteliais são pontos em que inexiste a interposição da membrana basal. Deste modo, a resistência elétrica entre as membranas é baixa, permitindo a transmissão facilitada de estímulos elétricos e químicos, assim como a difusão de substâncias de baixo peso molecular entre os dois tecidos, de modo a influir na contração do músculo liso adjacente<sup>3</sup>.

Desta forma, o acoplamento funcional músculo liso-endotélio vascular, diante dos estímulos nervosos, hormonais e dos peptídeos vasoativos, é o que determina a resultante final no tono vascular.

### Funcionamento do aparelho contrátil do músculo liso vascular

Todas as células musculares lisas contêm as proteínas contráteis miosina, actina, tropomiosina e

caldesmon. A miosina é a proteína principal do filamento grosso sendo composta por duas cadeias de alto peso molecular (cadeias pesadas), cada uma das quais associada a duas cadeias de baixo peso molecular ("myosin light chain"). Estas últimas têm atividade de ATPase e constituem o sítio principal da ativação, pelo íon cálcio, da contratilidade muscular. A proteína predominante no filamento fino é a actina, sendo a tropomiosina e o caldesmon, as proteínas intermediárias deste filamento, as quais desempenham importante papel regulador na interação actina-miosina<sup>4</sup>.

A contração muscular depende e é regulada pela concentração de  $Ca^{2+}$  disponível no citosol. No líquido intracelular este íon forma complexo com a calmodulina, proteína citosólica carreadora de cálcio. O complexo  $Ca^{++}$ -Calmodulina, tem a capacidade de ativar uma quinase solúvel específica, a quinase das cadeias leves da miosina (KCLM), que por sua vez, fosforila as cadeias leves da miosina, que contêm atividade  $Mg^{2+}$ ATPase responsável pela hidrólise do ATP e conseqüente liberação da energia necessária à contração muscular<sup>4</sup>. Por outro lado, alguns autores propõem que o complexo  $Ca^{++}$ -Calmodulina poderia atuar sobre as proteínas intermediárias do filamento fino, diminuindo o efeito inibidor destas proteínas sobre a interação actinamiosina, o que teria um efeito permissivo sobre a contração muscular<sup>5</sup>. As fenotiazinas e as difenil-alquilaminas (fendilina, prenilamina, perhexilina, cinarizina, etc.) têm efeitos vasodilatadores por inibirem a ação ativadora do complexo  $Ca^{++}$ -Calmodulina sobre a KCLM<sup>6</sup>.

### Homeostase celular do cálcio no músculo liso vascular

A homeostase da concentração do cálcio citosólico é fundamental na regulação do grau de contração do músculo liso vascular e portanto, na expressão do tono dos vasos de resistência. Sendo o tono destes vasos o promotor maior da chamada resistência periférica, pode-se inferir que, a resultante final dos mecanismos que regem a concentração de cálcio citosólico (e o fluxo deste íon através das membranas celulares) no músculo liso vascular tem

---

Laboratório de Bioquímica Nutricional e Metabólica do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina (UNESP) - Botucatu, SP.

influência importante na expressão da pressão arterial.

O gradiente da concentração do cálcio entre o meio extra e intracelular é enorme (cerca de 5.000 a 10.000 vezes), sendo mantido em grande parte pela baixa permeabilidade natural da membrana citoplasmática ao cálcio. A concentração do cálcio citosólico depende: a) do funcionamento dos mecanismos que possibilitam a entrada do cálcio extracelular para o meio intracelular (influxo); b) da ação moduladora exercida pelas organelas intracelulares, principalmente retículo sarcoplasmático e mitocôndrias e c) do funcionamento dos mecanismos que promovem a retirada do cálcio do citosol para o meio externo (efluxo)<sup>7</sup>.

Os mecanismos de influxo do cálcio estão sob o controle do potencial da membrana citoplasmática e de substâncias vasoativas (neurotransmissores, hormonais e autacóides) que regulam o funcionamento dos canais de cálcio. O potencial de membrana é determinado pelo gradiente das concentrações iônicas, que dependem do funcionamento dos canais de  $K^+$ , da bomba  $Na^+-K^+-ATPase$  e da troca  $Na^+-Ca^{2+}$  ( $3Na^+$  para cada  $Ca^{2+}$ ). A permeabilidade da membrana citoplasmática ao cálcio é regulada pelos canais de cálcio voltagem-dependentes (CVDs) e pelos canais de cálcio receptor-dependente (CRDs). Tanto os canais de cálcio, como os mecanismos que determinam o potencial de membrana, interagem mutuamente na regulação do cálcio citosólico<sup>8</sup>. Os canais de cálcio voltagem-dependentes são sensíveis ao bloqueio pelas diidropiridinas, motivo pelo qual estas drogas, também chamadas "antagonistas dos canais de cálcio", têm potente ação vasodilatadora, a inibirem o influxo de cálcio, diminuindo assim, a disponibilidade de cálcio citosólico para a contração do músculo liso vascular. Os canais de cálcio voltagem-dependentes e os receptor-dependentes são acoplados funcionalmente, havendo interação entre estes dois tipos na entrada de cálcio para o meio intracelular. Um mecanismo importante de ativação dos canais voltagem-dependentes é a despolarização provocada pela ativação de canais receptor dependentes acoplados a canais de  $K^+$  e à permuta  $3Na^+-Ca^{2+}$ . Outro mecanismo que pode facilitar a abertura dos canais voltagem-dependentes é a ação do AMPc, gerado pela interação de Beta-agonistas com seus receptores<sup>5</sup>. Isto poderia explicar parte da ação dos Beta-bloqueadores sobre o tono vascular.

A proporção maior de canais voltagem-dependentes (em relação aos canais

receptor-dependentes) na maioria das arteríolas de resistência poderia explicar a alta sensibilidade destes vasos aos antagonistas do cálcio, na inibição da contração induzida por neurotransmissores. Por outro lado, a pobreza de volume do retículo sarcoplasmático nos vasos de resistência explica a importância da entrada de cálcio extracelular para a fase inicial da contração do músculo liso vascular. Este fato também contribui para a ação vasodilatadora dos antagonistas do cálcio nos vasos de resistência<sup>8</sup>.

Os mecanismos de efluxo do cálcio mais importantes são: a) sistema  $Ca^{2+}-2H^+-ATPase$  ou bomba de cálcio, com baixa capacidade e alta afinidade pelo cálcio e b) sistema de permuta  $3Na^+-Ca^{2+}$  acionada de gradiente de  $Na^+$ , mantido pela bomba de sódio ( $Na^+-K^+-ATPase$ ) com alta capacidade, baixa afinidade pelo cálcio. Suas atividades são reguladas pela concentração citosólica de cálcio. O principal mecanismo de retroalimentação negativa é o aumento da concentração do complexo Ca-Calmodulina estimulando o funcionamento da bomba de cálcio. Tanto o AMPc como o GMPc também exercem a mesma ação, estimulando as bombas de cálcio. Desta maneira o aumento de concentração destes mensageiros no músculo vascular proporcionado pelos agonistas Beta adrenérgicos tem a propriedade de diminuir o tono vascular<sup>9</sup>. O efeito final das catecolaminas depende do balanço entre as ações Alfa (vasoconstritora) e Beta (vasodilatadoras).

### **Sistema mensageiro do cálcio no músculo liso vascular**

A ativação dos canais voltagem-dependentes e/ou dos canais receptor dependentes resulta em aumento na permeabilidade da membrana citoplasmática ao íon cálcio<sup>10</sup>. Este aumento inicial na concentração do cálcio intracelular leva à formação de complexos deste íon com a calmodulina. O complexo  $Ca^{2+}$ -calmodulina tem capacidade de deflagrar a contração muscular através da ativação da quinase da cadeia leve da miosina. Por outro lado, o complexo  $Ca^{2+}$ -calmodulina pode, através de um mecanismo de "feed-back" negativo estimular o efluxo de cálcio citosólico através das bombas de cálcio, provocando assim, uma diminuição no cálcio intracelular<sup>7</sup>. A manutenção da contração muscular vai depender da de segundos mensageiros oriundos da hidrólise de fosfolípidos (fosfatidil colina) de membrana, os fosfoinositóis (IP)<sup>5</sup>. A interação de um agonista (Alfa 1 agonistas, vasopressina, angiotensina, etc.) com um receptor específico de

membrana vai mudar a conformação de uma proteína G acoplada a este receptor, de modo a ativar uma enzima da membrana, a fosfolipase C<sup>11</sup>. A fosfolipase C ativada hidrolisa o inositol-2-fosfato em inositol-3-fosfato e diacilglicerol<sup>12</sup>. O primeiro funcionaria liberando cálcio do retículo sarcoplasmático<sup>13</sup>. O segundo, na presença de cálcio, ativaria uma quinase nos domínios da submembrana, a proteína-C-quinase, que por sua vez, teria vários mecanismos de atuação: a) fosforilação de um grupo de proteínas citosólicas responsáveis pela manutenção da ativação da quinase da cadeia leve da miosina. b) fosforilação direta da quinase da cadeia leve da miosina; c) inibição da fosfolipase e dos receptores Alfa 1; d) fosforilação das bombas de efluxo; e) inibição do caldesmon. A manutenção da contração pela via diacilglicerol-proteína C quinase não depende dos níveis de Ca<sup>++</sup> intracelular encontrados no início da contração muscular<sup>7, 9</sup>. Tanto o complexo Ca-Calmodulina como o diacilglicerol-proteína C quinase ativam as bombas de efluxo, mantendo o "turnover" de cálcio com concentração citosólica, desse íon, um pouco acima daquela encontrada no músculo em repouso. Desta maneira, existiriam duas vias no sistema mensageiro do cálcio: a via de deflagração da contração muscular desencadeada pela entrada rápida de cálcio no citosol e a formação do complexo CaCalmodulina e a via diacilglicerol-Proteína C quinase, que manteria a contração muscular<sup>13</sup>.

### **Sistemas do AMP cíclico e do ácido aracdônico no músculo liso vascular**

Os receptores beta agonistas acoplados a uma proteína G estimulatória (Gs), uma vez estimulados, são capazes de ativar a adenilato ciclase ligada à superfície intracelular da membrana citoplasmática. Esta enzima hidrolisa o ATP a AMP<sup>c11</sup>. O aumento da AMPc no músculo liso vascular tem várias consequências sobre o sistema mensageiro do cálcio: a) inativação da quinase da miosina de cadeia leve; b) inativação da fosfolipase C e c) aumento da atividade das bombas de efluxo de cálcio. Este conjunto de ações provocam o relaxamento muscular<sup>9</sup>. Desta maneira, os Beta bloqueadores, ao diminuírem a concentração de AMPc intracelular, teriam um efeito direto de aumentar o tono vascular, o qual é contrabalançado pelo efeito destas drogas sobre os canais de cálcio voltagem-dependentes e transmissão adrenérgica (inibição).

A cascata do ácido aracdônico se inicia a partir de sua formação a partir de duas fontes: ácido

fosfático, oriundo do diacilglicerol e pela hidrólise de um fosfolípide de membrana, a fosfatidilserina, por uma fosfolipase A<sup>2</sup>. Esta enzima, localizada também na membrana celular, é ativada de maneira semelhante e concomitante à ativação da fosfolipase C, pela interação de agonistas do tipo Alfa 1, vasopressina, angiotensina II, com seus receptores específicos<sup>14</sup>. O ácido aracdônico, sob a ação da ciclooxigenase, forma as prostaglandinas (PGE<sup>2</sup> e PGI<sup>2</sup>) e tromboxanas (TBxA<sup>2</sup>). A PGE<sup>2</sup> é a prostaglandina formada em maior concentração do músculo liso vascular e tem capacidade de ativar diretamente a adenilato ciclase solúvel, aumento dos níveis de AMPc, e ativar também, a guanilato ciclase, aumentando os níveis de GMPc. Ambos, AMPc e GMPc, têm efeitos semelhantes, que induzem ao relaxamento muscular e conseqüentemente, diminuem o tono vascular<sup>9,15</sup>. Por outro lado, a TBxA<sup>2</sup> (gerada em menor quantidade no músculo liso) age como um segundo mensageiro, agindo sobre receptores da membrana e ativando a fosfolipase C, que vai gerar outras mensagens (DG, IP<sup>3</sup>) e mantendo assim a contração do músculo liso. Assim, as drogas antiinflamatórias não hormonais, como aspirina e indometacina, ao inibirem a ciclooxigenase, diminuem a formação de PGE<sup>2</sup> muscular. Este efeito direto, que poderia levar a um aumento do tono vascular, é contrabalanceado pelo efeito das mesmas drogas sobre as plaquetas, com diminuição da TBxA<sup>2</sup> plaquetária (principal prostaglandina formada do metabolismo destas células)<sup>16</sup>.

### **Sistema renina-angiotensina vascular**

Foi demonstrado, recentemente, que a parede vascular contém os componentes do sistema renina-angiotensina, o que sugere a existência de um sistema local em adição ao sistema circulante. A angiotensina local poderia estimular a vasoconstricção ativando os receptores do músculo liso e facilitando a condução nervosa adrenérgica, aumentando, assim, o tono simpático<sup>18</sup>. Por outro lado, a síntese de prostaglandinas no endotélio pode ser aumentada por estímulo da angiotensina local, assim como a síntese de fatores relaxantes derivados do endotélio. Estes dois últimos efeitos contrabalançam o efeito vasoconstritor direto. Portanto, o efeito dos inibidores da enzima de conversão pode ser explicado pela ação direta diminuindo a concentração de angiotensina II e indireta, diminuindo o tono simpático e aumentando os níveis de bradicinina. A elevação da bradicinina se deve a sua menor destruição visto ser degradada pela mesma cininase que

converte a angiotensina I em angiotensina II<sup>5</sup>.

### Papel do endotélio vascular na regulação do tono

Basicamente, o endotélio vascular desempenha três funções na regulação do tono<sup>19</sup>: a) barreira física, impedindo a infiltração de substâncias de alto peso molecular na camada média de artérias maiores, o que acredita-se representar um dos mecanismos desencadeadores de aterogênese; b) barreira metabólica, com capacidade de degradação da angiotensina II, nucleosídeos da adenina, serotonina e noradrenalina, inativação da trombina, e c) capacidade de síntese de fatores relaxantes (EDRFs) e constritores (EDCFs)<sup>2</sup>, de prostaglandinas, da enzima de conversão da angiotensina I, heparina e de um grupo de substâncias denominadas glicoproteínas (entre elas o heparan sulfato), importantes no bloqueio dos estímulos aterogênicos e da proliferação do músculo liso (hipertrofia da média)<sup>3</sup>.

Como barreira metabólica, o endotélio diminui a exposição do músculo liso à ação de diversos agentes constritores. Na aterosclerose existiria maior reatividade vascular dependente da combinação da diminuição desta barreira metabólica e diminuição da capacidade de síntese de EDRFs<sup>20</sup>. Inúmeros agentes vasoativos agem através de receptores da membrana endotelial provocando a síntese de EDRFs, que atuam sobre o músculo liso modulando o efeito constritor direto destas substâncias<sup>21</sup>. A ação destes agentes vasoativos está associada ao aumento do cálcio citosólico endotelial provocado pela entrada de cálcio vias canais iônicos e pela liberação de estoques intracelulares<sup>22</sup>. A entrada do cálcio extracelular pode ocorrer por canais agonista-dependentes acoplados à via do inositol, canais de cálcio dependentes do gradiente eletroquímico, canais catiônicos não seletivos ativados pelo estiramento e pela troca  $Na^+-Ca^{2+}$ . O potencial de membrana é regulado por vários tipos de canais de potássio. A via do inositol endotelial funcionaria de maneira semelhante àquela descrita para o músculo liso vascular<sup>23</sup>. A síntese de EDRFs pelo endotélio está associada ao aumento da atividade da via do inositol<sup>24</sup>. A síntese de prostaglandinas ocorre de maneira semelhante àquela descrita para o músculo liso vascular<sup>16</sup> (fig. 1).

Entre as substâncias que atuam sobre os receptores endoteliais induzindo a síntese de EDRFs e prostaglandinas estão a acetilcolina, angiotensina, vasopressina, noradrenalina, bradicinina, trombina, serotonina e histamina. Por outro lado, a pressão pulsátil também é um poderoso estímulo para a pro-

dução de EDRFs e prostaglandinas<sup>25</sup>.

De acordo com as ações manifestadas no músculo liso foram descritos dois tipos de EDRFs<sup>25</sup>: óxido nítrico derivado do endotélio (EDNO) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). O primeiro seria sintetizado a partir da L-arginina<sup>27</sup> e seu modo de ação seria o de estimular a guanilato

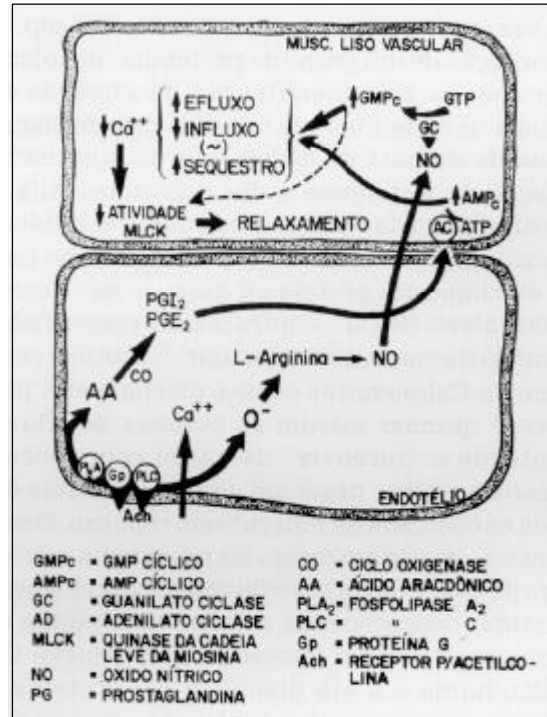


Fig. 1—Formação dos fatores endoteliais e auto sobre o músculo liso vascular.

ciclase solúvel do músculo liso (fig. 1)<sup>28</sup>. O aumento resultante dos níveis de GMPc, como já mencionado, tem propriedades vasodilatadoras SR<sup>29</sup>. O segundo tipo de EDRF, de natureza química ainda não bem definida, atuaria sobre a condutância de  $K^+$  e na bomba  $Na^+K^+ATPase$  da membrana celular do músculo liso, levando à hipertensão e daí, ao relaxamento<sup>30</sup>. A entrada de  $Ca^{2+}$  via canais estiramento (shear stress)-dependentes, com conseqüente síntese de EDRFs e prostaglandinas, torna o endotélio um verdadeiro sensor para a regulação do fluxo arteriolar<sup>31</sup>. A prostaciclina, principal derivado do ácido aracdônico endotelial, atua no músculo liso contíguo, estimulando a adenilato ciclase. Desta maneira, o aumento de AMPc levaria ao relaxamento muscular<sup>25</sup>.

O endotélio vascular também é capaz de indu-

zir vasoconstrição, mediada pela síntese de um peptídeo chamado endotelina<sup>32</sup>. Esta substancia é produzida quando o endotélio está sob condições de hipóxia aguda, baixa temperatura ou pressurização<sup>33</sup>. Atualmente a endotelina é reconhecida como fator importante na autoregulação cerebral<sup>34</sup>. A ação da endotelina no músculo liso vascular levaria ao aumento da corrente de cálcio pelos canais voltagem dependentes, ativação direta da fosfolipase C deflagrando a cascata dos mensageiros diacil glicerol-proteína C quinase e inositol-3-fosfato<sup>35,36</sup> e, aumento da atividade simpática por sensibilização dos receptores pós sinápticos às catecolaminas<sup>37</sup>. Pesquisas recentes sugerem que a endotelina pode ter um papel importante na modulação do tono vascular no homem<sup>38</sup>.

Em resumo, o endotélio desempenha um papel importante no controle do tono vascular e na inibição da aterogênese. A função moduladora do endotélio diminui com a idade, aterosclerose, diabetes mellitus, nos indivíduos submetidos por longo tempo a dietas ricas em colesterol e tabagistas<sup>20,25</sup>. O consumo de óleos de peixe, ricos em ácido eicosapentanóico, parece diminuir a mortalidade por doença coronariana devido a uma diminuição da agregabilidade plaquetária, mediada pelo endotélio vascular<sup>16</sup>.

### Modulação da atividade adrenérgica vascular

A atividade adrenérgica é a principal responsável pela manutenção do tono vascular nos vasos de resistência. Diversas substâncias atuam tanto na pré como pós-sinapse modulando a condução adrenérgica<sup>18</sup> (fig. 2). A acetilcolina desempenha papel importante no controle do tono dos vasos de resistência, inibindo a transmissão pré-sináptica através da ativação de receptores muscarínicos. A função inversa é desenvolvida pelos beta-agonistas e pela angiotensina II. Esta última estimula o aumento do tono vascular também pela sensibilização pós-sináptica<sup>39</sup>. (fig. 2). De acordo com dados experimentais o envelhecimento leva a uma resposta defeituosa do músculo liso vascular ao estímulo beta-adrenérgico<sup>40</sup> (motivo pelo qual diminui a resposta aos bloqueadores beta com a idade) assim como à modulação da neurotransmissão adrenérgica pelas

prostaglandinas<sup>41</sup>. O aumento da transmissão adrenérgica pré-sináptica pelas substancias com atividade Beta adrenérgica, explicaria parte da ação hipotensora das drogas Beta bloqueadoras, assim como os ECA diminuem a pressão arterial também por inibirem a estimulação adrenérgica induzida pela ANG II.

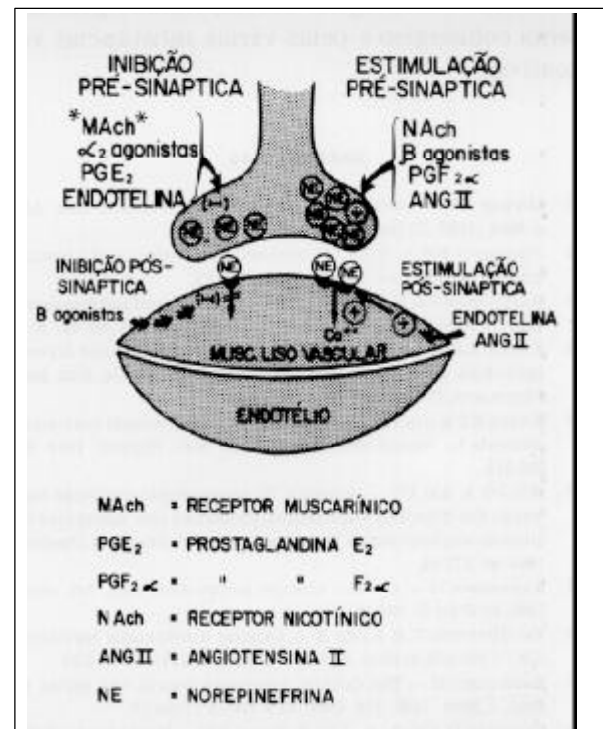


Fig. 2—Modulação da transmissão adrenérgica no músculo liso vascular.



Fig. 3—Controle local do tono vascular.

### Conclusão:

O músculo liso vascular desempenha papel primordial na manutenção do tono vascular sob a ação do sistema nervoso adrenérgico. Várias substâncias vasoativas atuam no binômio músculo liso-endotélio alterando o estado de

constrição vascular basal. Existem, fundamentalmente, três níveis de modulação do tono vascular (fig. 3): a) a nível muscular, proporcionado por mecanismos de retroalimentação negativa dentro do próprio sistema mensageiro do cálcio e pelos sistemas do AMPc, prostaglandinas e renina-angiotensina musculares; b) a nível endotelial, pela degradação de agentes vasoativos e produção de EDRFs e EDCFs; e c) a nível de condução adrenérgica, desempenhado pelo sistema colinérgico e pelas várias substâncias vasoativas.

## RREFERÊNCIAS

1. Morgan KG—Calcium and vascular smooth muscle tone. *Am. J. Med.*, 1987; S2 (suppl 3B): 9-15.
2. Furchgott RF — Role of endothelium responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.*, 1983; 53: 557-73.
3. Hammersen F & Hammersen E—Some structural and functional aspects of endothelial cells. *Bas. Res. Cardiol.*, 1985; 80: 491-501.
4. Kamm KE & Stull JT—The function of myosin and myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1985; 25:593-620.
5. Kamm KE & Stull JT—Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. *Annu. Rev. Physiol.*, 1989; 51: 299-313.
6. Mill JG & Alo DV—Aspectos do acoplamento excitação-contração nos músculos esqueléticos, cardíaco e liso. Alterações do músculo liso vascular na hipertensão arterial. *Arq. Bras. Cardiol.*, 1985; 45: 277-85.
7. Rasmussen H—Cellular calcium metabolism. *Ann. Int. med.*, 1983; 98 (Part 2): 809-16.
8. Van Breemen C & Saida K—Cellular mechanisms regulating (Ca<sup>2+</sup>)i smooth muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 1979; 51: 315-29.
9. Rasmussen H—The calcium messenger system (two parts) *N. Engl. J. Med.*, 1986; 314:1094-101 e 314(18):1164-70.
10. Caramelo C, Okada K, Tsai P, Shrier RW—Mechanisms of the vascular effect of pressor hormones. *Am. J. Cardiol.*, 1988; 62: 47G53G.
11. Michell RL—How do receptors at cell surface send signals to the cell interior? *Br. Med. J.*, 1987; 295: 1320-3.
12. Michell RH—Post-receptor signalling pathways. *Lancet*, 1989; 1: 765-7.
13. Berridge MJ—Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. *Ann. Rev. Biochem.*, 1987; 56: 159-94.
14. Smith WL—The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem. J.*, 1989; 259: 315-24.
15. Ferrario CM & Schiavone MT—The renin-angiotensin system in physiology and pathology. *CLEVE. Clin. Med.*, 1989; 56: 439-46.
16. Vane JR, Anggard EE, Botting RM—Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. engl. J. Med.*, 1990; 323 (1): 27-36.
17. Dzau VJ—Vascular renin-angiotensin system in hypertension. *Am. J. Med.*, 1988; 84 (suppl. 4A): 4-8
18. Weiner N—Multiple factors regulating the release of norepinephrine consequent to nerve stimulation. *Fed. Proc.*, 1979; 38: 2193-202.
19. Gerlach E, Ness S, Becker F—The vascular endothelium: A survey of some newly evolving biochemical and physiological features. *Bas. Res. Cardiol.*, 1985; 80: 459-74.
20. Harrison DG, Freiman PC, Armstrong ML, Marcus ML, Heistad DO—Alterations of vascular reactivity in atherosclerosis. *Circ. Res.*, 1987; 61 (suppl. II): II74-II80.
21. Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Millher VM, Houston DS—Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. Rev. Physiol.*, 1986; 48: 307-20.
22. Ryan US, Andonin PV, Dosing EY, Popov EG, Danilov SM, Tka chuk VA—Influence of vasoactive agents on cytoplasmic free calcium in vascular endothelial cells. *J. Appl. Physiol.*, 1988; 65: 2221-27.
23. Loeb AL, Izzo NJ, Johnson RM, Garrison JC, Peach MJ—Endothelium-derived relaxing factor release associated with increased endothelial cell inositol triphosphate and intracellular calcium. *Am. J. Cardiol.*, 1988; 62: 36G-40G.
24. Adams DJ, Barakeh J, Laskey R, Van Breemen C—Ion channels and regulation of intracellular calcium in vascular endothelial cells. *FASEB J.*, 1989; 3: 2389-400.
25. Bassengue E & Busse R—Endothelial modulation of coronary tone. *Prof. Cardiovasc. Dis.*, 1988; 30: 349-80.
26. Furchgott RF & Van Houtte PM—Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J.* 1989; 3: 2007-18.
27. Ignard LJ—Biological actions and properties of endothelium derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ. Res.*, 1989; 65:1-21.
28. Ignarro LJ—Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties *FASEB J.* 1989; 3: 31-6.
29. Peach MJ, Singer HA, Loeb AL—Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation. *Biochem. Pharmacol.* 1985; 34: 1867-74.
30. Kausser K, Stekiel WJ, Rubanyi G, Harder DR —Mechanism of action of EDRF on pressurized arteries: Effect on K<sup>+</sup> conductance. *Circ. Res.*, 1989; 65: 199-204.
31. Vallance P, Collier J, Moncada S—Effects of endothelium derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet*, 1989; 2: 997-1000.
32. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al—A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988; 332: 411-15.
33. Kasuya Y, Ishikawa T, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masachi T—Mechanism of contraction to endothelium in isolated porcine coronary artery. *Am. J. Physiol.*, 1989; 257: H1828-H1835.
34. Harder DR, Sanchez-Ferrer C, Kausser WJ, Stekiel WJ, Rubanyi GM—Pressure releases a transferable endothelial contractile factor in cat cerebral arteries. *Circ. Res.*, 1989; 65: 193-8.
35. Kasuya Y, Takuwa Y, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masachi T—Endothelin 1 induces vasoconstriction through two functionally distinct pathways in porcine coronary artery: contribution of phosphoinositide turnover. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1989; 161: 1049-55.
36. Lee T-S, Chao T, Hu H-Q, King GL—Endothelin stimulated a sustained 1,2 diacylglycerol increase and protein kinase C activation in bovine aortic smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1989;162: 381-6.
37. Tabuchi Y, Nakamaru M, Rakugi H, Nagano M, Ogihara T— Endothelin enhances adrenergic vasoconstriction in perfused rat mesenteric arteries. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1989; 159: 1304-8.
38. Clarke JG, Benjamin N, Larkin SW, Webb DJ, Davies GJ, Maseri A— Endothelin is a potent longlasting vasoconstrictor in men. *Am. J. Physiol.*, 1989; 257: H2033-H2035.
39. Zimmerman BG—Adrenergic facilitation by angiotensin: does it serve a physiological functions? *Clin. Sci.*, 1981; 60:343-8.
40. Deisher TA, Mankani S, Hoffman BB—Role of cyclic AMP-dependent protein kinase in the diminished beta-adrenergic responsiveness of vascular smooth muscle with increasing age. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 1989; 249: 812-9, 1989.
41. Jackson EK—Defective modulation of noradrenergic neuro transmission by endogenous prostaglandins in aging spontaneously rats. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1989; 250: 9-21.