

Disfunción del endotelio, riñón e hipertensión arterial

E. Nava

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia.

RESUMEN

El óxido nítrico (NO) controla la presión sanguínea fundamentalmente por medio de dos mecanismos: dilatando los vasos sanguíneos y favoreciendo la diuresis y natriuresis en el riñón. El papel del NO en la hipertensión es bastante complejo ya que existen importantes diferencias dependiendo del modelo de hipertensión estudiado. En la hipertensión genética, la producción de NO está aumentada tanto en el sistema cardiovascular como en el riñón, probablemente como un mecanismo compensatorio contra la hipertensión. Aunque el NO se libera en mayor cantidad, su bioactividad parece estar disminuida. En la hipertensión renovascular la producción de NO también estaría aumentada. En contraste con la hipertensión genética y renal, en la hipertensión sal-sensible la generación de NO es deficitaria. En la hipertensión esencial humana el mecanismo vasodilatador dependiente de NO está alterado.

Palabras clave: **óxido nítrico (NO), hipertensión esencial, tono vascular, sal-sensibilidad.**

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, KIDNEY AND HYPERTENSION

SUMMARY

Nitric oxide (NO) regulates blood pressure by two main mechanisms: dilating blood vessels and favouring renal diuresis and natriuresis. The role of NO in hypertension is quite complex, as there are important differences depending on the model of hypertension studied. In genetic hypertension, the production of NO is increased both in the cardiovascular and renal systems, probably as a counterregulatory mechanism against hypertension. However, although NO is released in higher amounts, its bioactivity seems to be diminished. In renovascular hypertension the production of NO is also augmented. In contrast with genetic and renal hypertension, in salt-sensitive hypertension the generation of NO is decreased. In human essential hypertension NO-dependent vasodilatation is altered.

Key words: **Nitric oxide (NO), hypertension, salt-sensitivity.**

OXIDO NITRICO Y REGULACION DE LA PRESION ARTERIAL

Endotelio

El óxido nítrico (NO) se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina por una familia de enzimas llama-

das NO sintasas (NOS). Una isoforma de estos es un enzima Ca⁺⁺-dependiente: NOS endotelial (eNOS) que está expresado constitutivamente en las células endoteliales de los vasos sanguíneos¹ y participa en la regulación de la presión arterial². El NO liberado por la célula endotelial activa en la célula muscular lisa una guanilato ciclasa que cataliza la formación de GMP cíclico que determina la relajación de la fibra lisa. Los inhibidores de la producción de NO inducen una hipertensión pronunciada y mantenida cuando son administrados *in vivo*², indicando que el sistema cardiovascular está expuesto a un continuo tono vasodilatador producido por la liberación basal de

Correspondencia: E. Nava
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Murcia
Campus Universitario de Espinardo
30100 Espinardo (Murcia)

NO. La actividad de la eNOS está modulada por el *shear stress* o estrés de rozamiento de la sangre sobre la superficie endotelial que a su vez depende del flujo y la viscosidad sanguíneas³. Las variaciones en la presión arterial también afectan a la liberación endotelial de NO. En nuestro laboratorio hemos observado que cuando reducimos agudamente la presión arterial en ratas anestesiadas, la producción de NO (medida como nitrato plasmático) disminuye y, por el contrario, las elevaciones en la presión se acompañan de una producción aumentada de NO. Esto sugiere que en la hipertensión se produce una regulación al alza (upregulation) de la producción de NO y lo contrario sucede con la hipotensión^{4,5}.

Riñón

La NOS también se expresa en el riñón y parece tener un importante papel en el control de la presión sanguínea. En el riñón no sólo se expresa la isoforma endotelial de la NOS, sino también las isoformas neuronal (nNOS) e inducible (iNOS). Estas dos últimas son más conocidas por su presencia en el sistema nervioso y en el sistema inmune, respectivamente. La [tabla 1](#) muestra la distribución de las NO sintasas en diferentes estructuras del riñón.

La administración de dosis muy bajas de inhibidores de la NOS, que no llegan a tener efectos hemodinámicos, son capaces de reducir la excreción de agua y sodio¹¹. Por lo tanto, el riñón es un órgano particularmente sensible a la pérdida de NO. Además los inhibidores de la NOS administrados a pequeñas dosis producen una hipertensión volumen-dependiente ya que conducen a un aumento de la presión arterial cuando, al mismo tiempo, se somete al animal a una sobrecarga de sodio¹². En este sentido, la médula renal tiene una especial importancia ya que regula los procesos de natriuresis inducida por presión. El mecanismo subyacente no está muy claro, pero parece estar relacionado con la circulación san-

guínea medular y con la particularidad de que el flujo medular no está tan autorregulado como en la corteza¹³. Se da la circunstancia de que el NO tiene un importante papel en el control del flujo sanguíneo medular y su bloqueo da lugar a retención de sodio, hipertensión, desplazamiento de la curva presión-natriuresis y, finalmente este flujo se torna anormalmente autorregulable^{14,15} ([fig. 1](#)). Madrid y cols. han demostrado que, en comparación con el flujo en la corteza renal, el flujo sanguíneo medular está fundamentalmente regulado por el NO, teniendo muy poca influencia sobre éste los factores vasoconstrictores como la angiotensina y los nervios renales¹⁶. Además la actividad enzimática de la NOS es manifiestamente más alta en la médula renal que en otros tejidos relacionados con la regulación de la presión arterial tales como la propia corteza renal, el corazón o los vasos sanguíneos ([fig. 2](#))¹⁷. Mattson y Bellehumeur destacaron la particular importancia funcional de la isoforma neuronal de la NOS en el control renomedular de la presión arterial¹⁸. Sus hallazgos sugieren que la médula renal tiene una gran capacidad para producir NO y que éste debe cumplir una misión relevante en esta región del riñón. Concretamente se sabe que el NO regula el transporte de Na en la célula epitelial tubular posiblemente inhibiendo la actividad de la bomba ATPasa Na/K¹⁹. Así, el NO disminuiría la excreción de agua y facilitaría la reducción de la presión arterial.

EL OXIDO NITRICO EN LA HIPERTENSION ESPONTANEA

Endotelio

La función endotelial de los vasos de la rata espontáneamente hipertensa (SHR) ha sido un motivo de controversia incluso antes de que se conociera la existencia del factor relajante derivado del endotelio (EDRF). Ya en 1966 Spector y cols. mostraron que los

Tabla 1. Expresión de las diferentes isoformas de la NO sintasa: endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e inducible (iNOS). cNOS = NOS constitutiva (eNOS + iNOS). Las discrepancias entre autores podrían explicarse por diferencias metodológicas y de sensibilidad. En la cita 10 sólo se analizó iNOS, mientras que los otros trabajos se focalizaron en eNOS y nNOS.

| Aferente | Glomérulo | Eferente | Vasa recta | Capilares peritubulares | Cápsula de Bowman | Túbulo proximal | Asa de Henle | Túbulo distal | Mácula densa | Túbulo colector | Ref. |
|----------|-----------|--------------|------------|-------------------------|-------------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|-----------------|------|
| eNOS | eNOS | eNOS nNOS | eNOS | | nNOS | | nNOS | nNOS | nNOS | | 6 |
| eNOS | cNOS | | cNOS | | | | cNOS | | | cNOS | 7 |
| eNOS | eNOS | | eNOS | | | eNOS | eNOS | | | eNOS | 8 |
| eNOS | eNOS | eNOS | eNOS | eNOS | nNOS | | | | nNOS | nNOS | 9 |
| | | | | | | iNOS | iNOS | iNOS | | iNOS | 10 |

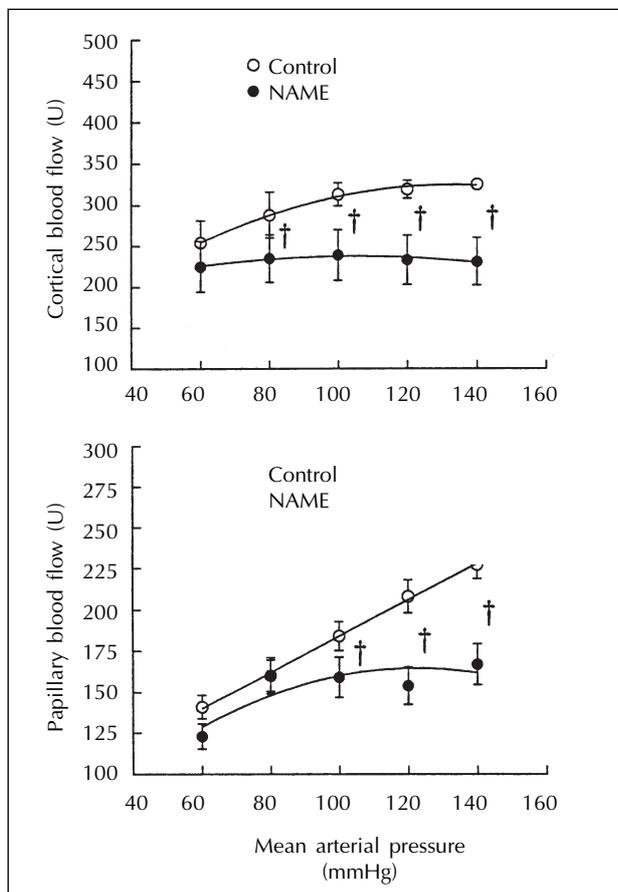


Fig. 1.—Relación entre el flujo sanguíneo cortical y papilar (medular) con la presión arterial media en presencia o ausencia del inhibidor de la síntesis de NO nitroarginina metiléster (NAME) véase como el flujo cortical está autorregulado, es decir, se mantiene casi constante al variar la presión arterial, mientras que el flujo sanguíneo medular no autorregula excepto si falta el NO (de la ref. 15, con autorización).

vasos de la SHR relajan mejor que los de ratas normotensas²⁰ pero posteriormente se describió lo contrario²¹. Tras el descubrimiento del EDRF, la respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente de vasos de SHR ha demostrado ser defectuosa^{22,23}. Se ha sugerido que este deterioro sería debido a una capacidad disminuida del músculo liso vascular para relajar^{21,22} o a una producción excesiva de factores contráctiles²³.

Respecto a la biología del NO en la hipertensión genética, nuestros estudios apuntan a que la actividad y (o) la expresión de la NOS estaría aumentada en arterias de resistencia²⁴ (fig. 3), corazón^{24,25} (fig. 4), y riñón^{9,17} (fig. 2). Además, la concentración del producto de oxidación del NO, el nitrato, es más alta en ratas SHR que en las controles normotensas²⁴ (fig. 3). Sin embargo, la acumulación de GMP cíclico en vasos de resistencia es similar en ratas nor-

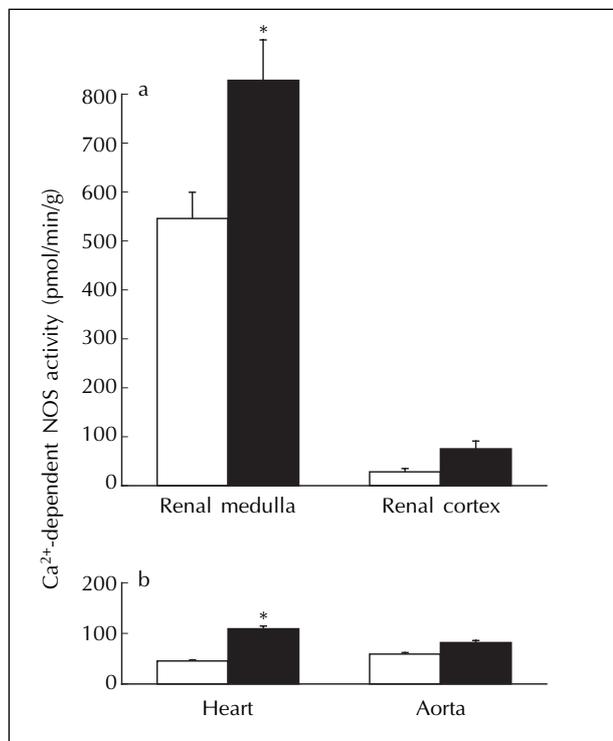


Fig. 2.—Actividad de la NO sintasa (NOS) constitutiva (eNOS + iNOS) en el riñón (a) y el corazón y aorta (b) de ratas normotensas Wistar-Kyoto (WKY, barras blancas) y ratas espontáneamente hipertensas (SHR, barras negras). En ambos tipos de ratas la actividad es mucho mayor en la médula renal. En la médula y el corazón de la SHR la actividad es significativamente mayor que en los mismos tejidos de la rata WKY. * $p < 0,05$ comparado con el mismo tipo de tejido de la rata WKY (De la ref. 17, con autorización).

motensas e hipertensas²⁴ (fig. 3). Por último, el tono vasodilatador dependiente de NO, (evaluado por los efectos hipertensores de la administración de inhibidores de la NOS) también es similar en hiper- y normotensión²⁴. Por consiguiente, el NO producido endógenamente estaría aumentado en la SHR, pero sus efectos biológicos están disminuidos posiblemente por un exceso de radicales libres tal y como sugieren los resultados de Nakazono y cols.²⁶.

Corazón

El corazón es un órgano diana importante en la hipertensión. La expresión y actividad enzimática de eNOS es más alta en endotelio de corazones de SHR adultas^{24,25} (fig. 4). Ratos SHR muy jóvenes, que no han tenido tiempo de desarrollar hipertensión, no presentan este aumento de actividad²⁵. Por otro lado, la actividad aumentada de cNOS ocurre a expensas del ventrículo izquierdo que es el que ha de

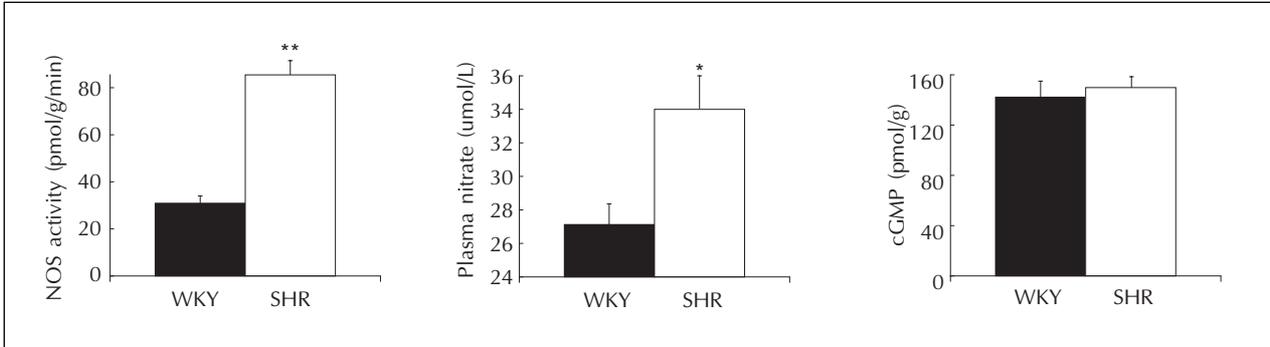


Fig. 3.—De izquierda a derecha: actividad enzimática de la NO sintasa constitutiva (eNOS + iNOS) en arterias de resistencia, nitrato plasmático (índice de producción de NO) y niveles de GMP cíclico en arterias de resistencia de ratas normotensas (WKY) e hipertensas (SHR). Véase que, así como la actividad enzimática y la producción real de NO está incrementada en la rata SHR, la bioactividad de este NO es relativamente menor que en la rata normotensa ya que no es capaz de aumentar adecuadamente los niveles de GMP cíclico (de la ref. 24, con autorización).

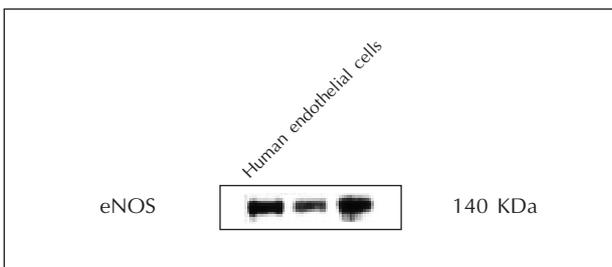


Fig. 4.—Expresión de NO sintasa endotelial (eNOS) en corazón de ratas normotensas (WKY) e hipertensas (SHR) (De la ref. 24, con autorización).

soportar la presión arterial aumentada en la rata SHR²⁵. Estas observaciones sugieren una vez más que es la presión arterial elevada la que condiciona el incremento de la actividad NOS.

Riñón

Estudios realizados en nuestro laboratorio muestran que la actividad de la NOS constitutiva Ca²⁺-dependiente en la médula renal (importante en el control renal de la presión arterial, ver apartado 1.2) es más alta en ratas SHR que en ratas normotensas (fig. 2)¹⁷. En un trabajo aún no publicado realizado en colaboración con Rodrigo y cols., hemos observado que la actividad aumentada de la NOS en la médula de la SHR ocurre fundamentalmente a expensas de la isoforma neuronal y menos de la isoforma endotelial⁹. Los riñones de ratas SHR presentan una llamativa inmunotinción para nNOS en los túbulos colectores medulares y en las fibras nerviosas. En los riñones de ratas normotensas esta tinción es menos intensa. Las diferencias en la inmunotinción para eNOS entre ratas normo e hipertensas son

menos patentes. Resulta interesante que, mientras que en el sistema cardiovascular la hipertensión conduce a un aumento de la isoforma endotelial, en el riñón aumenta fundamentalmente el enzima neuronal. Dado que el control medular de la presión arterial mediado por NO parece ser de origen nNOS¹⁸, es posible que el riñón se intente adaptar a la hipertensión sobreexpresando nNOS y el sistema cardiovascular por medio de eNOS.

EL OXIDO NITRICO EN LA HIPERTENSION RENOVASCULAR

En la hipertensión renal la función endotelial está alterada²⁷ lo que en principio sugiere una producción disminuida de NO. Sin embargo, se ha demostrado que el tratamiento de ratas hipertensas renovasculares con un inhibidor de la síntesis de NO afecta similarmente al flujo sanguíneo de los riñones con reducción de su diámetro arterial y a los contralaterales así como también a los riñones controles normotensos²⁸. En este trabajo se concluyó que en este modelo de hipertensión, el endotelio, no sólo no es disfuncional, sino que es un componente crítico en la adaptación a la presión arterial elevada²⁸. Interesantemente, Pucci y cols. han demostrado que la función vasodilatadora endotelial en la hipertensión inducida por coartación aórtica está mediada por NO mientras que en la hipertensión sal-sensible, no es así²⁹ (ver apartado 4). Estudios recientes han puesto de manifiesto que ratas hipertensas 1K1C acumulan mayor cantidad de GMP cíclico y de metabolitos de NO en comparación con ratas controles³⁰. Por lo tanto, en la hipertensión renovascular la producción de NO aumentaría para compensar la presión arterial elevada de forma similar a lo que ocurre en la hipertensión genética.

EL OXIDO NITRICO EN LA HIPERTENSION SAL-SENSIBLE

Las ratas Dahl sal-sensibles sufren alteraciones en la función endotelial, aunque en ellas no se detecta una mayor liberación de prostanoideos vasoconstrictores como ocurre en la rata SHR³¹. La inhibición de la síntesis de NO da lugar a un aumento de presión arterial que es más alto en ratas normotensas que en ratas Dahl sal-sensibles, sugiriendo que la síntesis de NO es menor en estos animales³². En esta línea, Ikeda y cols. han encontrado que la actividad enzimática de la nNOS (la isoforma aparentemente más importante en el control renal de la presión arterial) es menor en riñones de ratas Dahl sal-sensibles en comparación con las ratas sal-resistentes³³ (fig. 5). Curiosamente, la producción de NO es más acusada cuando se incrementa el aporte de NaCl a las ratas sal-resistentes que en las ratas hipertensas sal-sensibles, sugiriendo que las ratas sal-resistentes responden con un aumento en la producción de NO al aumentar la ingesta de sal, mientras que las sal-sensibles no serían capaces de incrementar su formación de NO. Finalmente, la administración de L-arginina es capaz de disminuir la presión arterial en las ratas sal-sensibles pero no en las sal-resistentes³². Resultados obtenidos en otros modelos de hipertensión sal-sensible, tales como la rata DOCA sal-sensible³⁴ o la rata Sabra sal-sensible³⁵, apuntan en el mismo sentido.

EL OXIDO NITRICO EN LA HIPERTENSION HUMANA

La experimentación en humanos ha revelado hasta ahora una producción disminuida de NO³⁶⁻³⁹. Sin em-

bargo, la mayoría de los estudios se han realizado midiendo los cambios en el flujo de sangre del antebrazo en respuesta a inhibidores o estimuladores de la NOS y, desgraciadamente, muy pocos trabajos han medido el NO o sus metabolitos. Vallance y cols. han demostrado la existencia de una relación inversa entre la presión arterial y la caída en el flujo de sangre en la arteria braquial en respuesta a un inhibidor de la NOS (en relación a la respuesta a norepinefrina) de forma que a mayor presión arterial, menor es la producción de NO y viceversa³⁶. Estudios efectuados por Taddei y cols.³⁷ han demostrado que la hipertensión esencial se asocia a una producción aumentada de una sustancia vasoconstrictora ciclooxigenasa-dependiente derivada de endotelio, que podría suprimir la funcionalidad del NO de las células endoteliales de forma similar a lo observado hace años en la SHR²³. Este grupo también ha mostrado que la vasodilatación antebraquial producida por acetilcolina está reducida en normotensos descendientes de pacientes hipertensos, demostrando así que la disfunción endotelial puede preceder a la aparición de la hipertensión³⁸. Finalmente, se ha sugerido que la disfunción endotelial de la hipertensión esencial no sería más que una aceleración del proceso degenerativo endotelial que ocurre normalmente durante el envejecimiento³⁹. Aunque algunos estudios en animales muestran efectos beneficiosos de la administración de L-arginina en la hipertensión sal-sensible^{32,34}, en pacientes sal-sensibles los efectos beneficiosos de este sustrato no son tan claros ya que la capacidad de la L-arginina para producir NO está disminuida cuando los enfermos sufren una sobrecarga de sal⁴⁰.

Parte de los resultados expuestos en esta revisión han sido financiados con el proyecto FIS 96/1329.

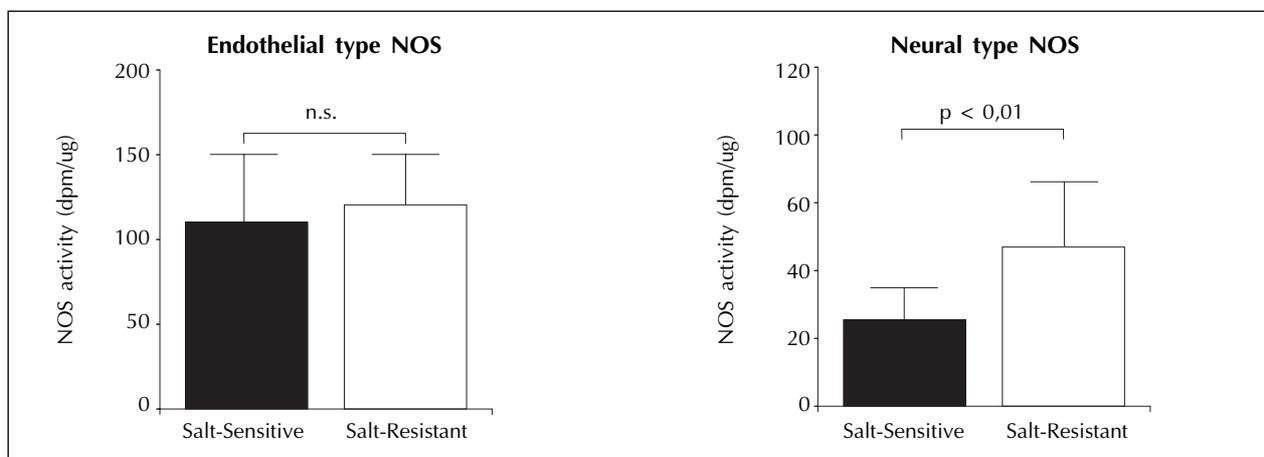


Fig. 5.—Actividad enzimática de endotelial y neuronal NOS (eNOS y nNOS) en riñón de ratas Dahl sal-sensibles y sal-resistentes. Véase como la actividad de nNOS, pero no la de eNOS es menor en la rata hipertensa sal-sensible comparada con la normotensa sal-resistente (De la ref. 33, con autorización).

Bibliografía

1. Busse R, Mülsch A: Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS Letts* 265: 133-136, 1990.
2. Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S: Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 86: 3375-3378, 1989.
3. Buga GM, Gold ME, Fukuto, JM, Ignarro L: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 17: 187-193, 1991.
4. Nava E, Wiklund NP, Salazar FJ: Changes in nitric oxide release *in vivo* in response to vasoactive substances. *Br J Pharmacol* 119: 1211-1216, 1996.
5. Nava E, Leone AM, Wiklund NP, Moncada S: Detection of release of nitric oxide by vasoactive substances in the anesthetized rat. In: *The Biology of Nitric Oxide*; Eds: M. Feilisch, R. Busse and S. Moncada. Portland Press, London; pp. 179-181, 1994.
6. Bachmann S, Bosse HM, Mundel P: Topography of nitric oxide synthesis by localizing constitutive NO synthases in mammalian kidney. *Am J Physiol* F885-F898, 1995.
7. Terada Y, Tomita K, Nonoguchi H, Marumo F: Polymerase chain reaction localization of constitutive nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase messenger RNAs in microdissected rat nephron segments. *J Clin Invest* 90: 659-665, 1992.
8. Ujiie K, Yuen J, Hogarth L, Danziger R, Star RA: Localization and regulation of endothelial NO synthase mRNA expression in rat kidney. *Am J Physiol* 267: F296-302, 1994.
9. Nava E, Salazar J, Martínez de Velasco J, Martínez-Murillo R, Fernández AP, Serrano J, Rodrigo J: Distribution of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in normal and hypertensive rat kidneys. *J Am Soc Nephrol* 7: 1540, 1996.
10. Ahn KY, Mohaupt MG, Madsen KM, Kone BC: In situ hybridization localization of mRNA encoding inducible nitric oxide synthase in rat kidney. *Am J Physiol* F748-757, 1994.
11. Lahera V, Salom MG, Miranda Guardiola F, Moncada S, Romero C: Effects of N-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. *Am. J. Physiol* 261: F1033-F1037, 1991.
12. Salazar FJ, Alberola A, Pinilla JM, Romero JC, Quesada T: Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertension* 22: 49-55, 1993.
13. Roman RJ, Cowley AW, García-Estan J, Lombard J: Pressure-diuresis in volume-expanded rats: cortical and medullary hemodynamics. *Hypertension* 12: 168-176, 1988.
14. Mattson DL, Lu S, Nakanishi K, Papanek PE, Cowley AW: Effect of chronic medullary nitric oxide inhibition on blood pressure. *Am J Physiol* 266: H1918-H1926, 1994.
15. Fenoy FJ, Ferrer P, Carbonell L, Salom MG: Role of nitric oxide on papillary blood flow and pressure natriuresis. *Hypertension* 25: 408-414, 1995.
16. Madrid MI, García-Salom M, Tornel J, de Gasparo M, Fenoy FJ: Interactions between nitric oxide and angiotensin II on renal cortical and papillary blood flow. *Hypertension* 30: 1175-1182, 1997.
17. Nava E, Llinás MT, González JD, Salazar FJ: Nitric oxide synthase activity in renal cortex and medulla of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertension* 9: 1236-9, 1996.
18. Mattson DL, Bellehumeur TG: Neural nitric oxide synthase in the renal medulla and blood pressure regulation. *Hypertension* 28: 297-303, 1996.
19. McKee M, Scavone C, Nathanson J: Nitric oxide, cGMP, and hormone regulation of active sodium transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 12056-60, 1994.
20. Spector S, Fleisch JH, Maling HM, Brodie BB: Vascular smooth muscle reactivity in normotensive and hypertensive rats. *Science* 166: 1300-1301, 1966.
21. Cohen ML, Berkowitz BA: Decreased vascular relaxation in hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 196: 396-406, 1976.
22. Konishi M, Su C: Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension* 5: 881-886, 1983.
23. Lüscher TF, Vanhoutte PM: Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 8: 344-348, 1986.
24. Nava E, Farré AL, Moreno C, Casado S, Moreau P, Cosentino F, Lüscher TF: Alterations to the nitric oxide pathway in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens* 16: 609-615, 1998.
25. Nava E, Noll G, Lüscher TF: Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in hearts from spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 91: 2310-2313, 1995.
26. Nakazono K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 10045-10048, 1991.
27. Dohi Y, Criscione L, Lüscher TF: Renovascular hypertension impairs formation of endothelium-derived relaxing factors and sensitivity to endothelin-1 in resistance arteries. *Br J Pharmacol* 104: 349-354, 1991.
28. Sigmon DH, Beierwaltes WH: Nitric oxide influences blood flow distribution in renovascular hypertension. *Hypertension*. 23: 134-139, 1994.
29. Pucci ML, Miller KB, Dick LB, Guan H, Lin L, Nasjletti A: Vascular responsiveness to nitric oxide synthesis inhibition in hypertensive rats. *Hypertension* 23: 744-751, 1994.
30. Dubey RK, Boegehold MA, Gillespie DG, Rosselli M: Increased nitric oxide activity in early renovascular hypertension. *Am J Physiol* 270: R118-R124, 1996.
31. Lüscher TF, Raji L, Vanhoutte PM: Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 9: 157-163, 1987.
32. Chen PY, Sanders PW: L-Arginine abrogates salt sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 88: 1559-1567, 1991.
33. Ikeda Y, Saito K, Kim JJ, Yokoyama M. Nitric oxide synthase isoform activities in kidney of Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension* 26: 1030-1034, 1995.
34. Hayakawa H, Hirata Y, Suzuki E, Kimura K, Kikuchi K, Nagano T, Hirobe M, Omata M: Long term administration of L-arginine improves nitric oxide release from kidney in deoxycorticosterone acetate salt hypertensive rats. *Hypertension* 23: 752-756, 1994.
35. Rees D, Ben-Ishay D, Moncada S: Nitric oxide and the regulation of blood pressure in the hypertension-prone and hypertension-resistant Sabra rat. *Hypertension* 28: 367-371, 1996.
36. Calver A, Collier J, Vallance P: Forearm blood flow responses to a nitric oxide synthase inhibitor in patients with treated essential hypertension. *Cardiovascular Res* 28: 1720-1725, 1994.
37. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Salvetti A: Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. *Hypertension* 21: 929-933, 1993.
38. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Arzilli F, Salvetti A: Endothelium-dependent forearm vasodilation is reduced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 20: S193-S195, 1992.
39. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A: Hypertension causes premature ageing of endothelial function in humans. *Hypertension* 29: 736-743, 1997.
40. Higashi Y, Oshima T, Watanabe M, Matsuura H, Kajiyama G: Renal response to L-arginine in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Hypertension* 27: 643-648, 1996.