

**GISELE KRUGER COUTO**

**Estudo da Função em  
Artérias de Resistência de Ratos  
Pós-infarto do Miocárdio**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia

Orientador: Profa. Dra. Luciana Venturini Rossoni

Versão original

São Paulo  
2012

## RESUMO

Couto GK. Estudo da função em artérias de resistência de ratos pós-infarto do miocárdio. [Tese (doutorado em ciências)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

Esta tese avaliou a função vascular em artérias de resistência do músculo esquelético (ARME) e coronárias (AC) septais de ratos com disfunção ventricular esquerda leve (LDV) e severa (SDV) pós-infarto do miocárdio (INF). Ratos Wistar foram submetidos à ligadura da AC descendente anterior, para indução do INF, ou à cirurgia fictícia (SHAM). Após 4 semanas, o grupo INF foi subdividido, baseado nas medidas hemodinâmicas, em: INF LDV e INF SDV. Em seguida, as ARME e as AC septais foram montadas em miógrafo de arame. O relaxamento dependente do endotélio induzido pela acetilcolina (ACh) foi reduzido em ARME dos INF SDV e preservado nos INF LDV. Na AC septal dos INF SDV a resposta à ACh foi reduzida; enquanto que esta foi aumentada nos INF LDV. Por sua vez, o doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio, teve seu relaxamento preservado em todas as artérias estudadas. Utilizando-se a sonda DAF-2 em cortes de AC septais, antes e após estimulação com ACh, detectou-se menor produção de óxido nítrico (NO) nos INF SDV; ao passo que nos INF LDV observou-se maior produção de NO. Na AC observou-se aumento das espécies reativas derivadas do oxigênio (EROs, utilizando-se a dihidroetidina) nos INF SDV e redução destas nos INF LDV. A incubação com os inibidores: L-NAME (inibidor da sintase de NO (NOS)); 7-NI (inibidor seletivo da NOS neuronal (nNOS)); ou LY294002 (inibidor da PI3-quinase); aboliu as diferenças no relaxamento à ACh entre as AC dos INF LDV e SHAM. Detectou-se maior expressão protéica da nNOS, da eNOS (NOS endotelial), e das isoformas da superóxido dismutase (SOD) na AC dos INF LDV em relação ao SHAM. Dessa forma, na AC dos INF SDV observa-se disfunção endotelial caracterizada pela redução da modulação nitrérgica associada ao estresse oxidativo; porém de forma inédita a AC dos INF LDV apresentaram ajustes compensatórios que levaram ao aumento da função endotelial devido à maior modulação nitrérgica, a qual decorreu de maior síntese (ativação da nNOS e da via PI3-quinase/Akt/eNOS) e biodisponibilidade de NO (redução das EROs e aumento da defesa antioxidante mediada pela SOD). Perifericamente, somente observou-se disfunção endotelial na ARME dos INF SDV. Assim, pode-se concluir que a função nas ARME e nas AC é diferentemente modulada na dependência do estado da função cardíaca pós-infarto do miocárdio.

**Palavras-chaves:** Artéria coronária. Artéria de resistência do músculo esquelético. Reatividade vascular. Infarto do miocárdio. Óxido nítrico.

## ABSTRACT

Couto GK. Vascular resistance function in myocardial infarction rats. [PhD thesis (Science)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

This study assessed the reactivity in skeletal muscle resistance arteries (SMRA) and in septal coronary arteries (CA) from rats with slight (sliLVD) and severe (sevLVD) left ventricular dysfunction after myocardial infarction (MI). Male Wistar rats were submitted to CA ligation to produce MI or sham operation (SHAM). After 4 weeks, MI animals were subdivided according to hemodynamic parameters in: MI sliLVD and MI sevLVD. Afterwards, SMRA and the septal CA were mounted on a wire myograph. Acetylcholine (ACh)-induced endothelium-dependent relaxation was reduced in SMRA from MI sevLVD; but it was preserved in MI sliLVD. On the other hand, the relaxation to ACh was reduced in CA from MI sevLVD; while it was increased in MI sliLVD. The nitric oxide (NO) donor, sodium nitroprusside, relaxation was unchanged in all studied arteries. The NO production was analyzed by DAF-2 probe in septal CA before and after ACh stimulation. NO production was decreased in CA from MI sevLVD, while it was increased in MI sliLVD. Reactive oxygen species (ROS; measured by dihydroethidine) was increased in septal CA from MI sevLVD and it was reduced in MI sliLVD. The incubation with: L-NAME (NO synthase (NOS) inhibitor); 7-NI (selective neuronal NOS (nNOS) inhibitor); or LY294002 (PI3-kinase inhibitor); abolished the differences in ACh-induced relaxation between septal AC from SHAM and MI sliLVD. nNOS, eNOS (endothelial NOS), and superoxide dismutase (SOD) isoforms protein expression was greater in CA from MI sliLVD as compared to SHAM. The present results suggest that septal CA from MI sevLVD present endothelium dysfunction characterized by reduced nitrergic modulation associated to oxidative stress.; however, for the first time, the present results show compensatory adjustment as increased nitrergic modulation, due to higher NO synthesis (nNOS and PI3-kinase/Akt/eNOS pathway activation) and bioavailability (reduction in ROS and increase in SOD antioxidant defense), in septal CA from MI sliLVD. Moreover, in the peripheral resistance arteries the endothelium dysfunction only was observed in SMRA from MI sevLVD. In conclusion, SMRA and CA function is differentially modulated on the dependency of the cardiac function after myocardial infarction.

**Key words:** Coronary artery. Skeletal muscle resistance arteries. Vascular reactivity. Myocardial infarction. Nitric oxide.

## 1 INTRODUÇÃO

A principal função do sistema cardiovascular é fornecer fluxo sanguíneo para os tecidos de modo a atender as necessidades metabólicas dos mesmos (Opie, 2004a). As pequenas artérias e arteríolas constituem o local do sistema circulatório de maior resistência periférica imposta ao fluxo sanguíneo e, esta maior resistência, em parte, é atribuída ao pequeno diâmetro destas artérias (Mulvany, Aalkjaer, 1990; Opie, 2004a). Esta resistência pode ser alterada, constantemente, pelo tônus do músculo liso vascular, que equivale ao balanço momentâneo entre as forças que induzem vasodilatação e vasoconstrição (Mulvany, Aalkjaer, 1990; Opie, 2004a). Assim, por meio de alterações dinâmicas do tônus do músculo liso vascular, as artérias coronárias e as artérias de resistência da musculatura esquelética ajustam, constantemente, o fluxo sanguíneo direcionado para as musculaturas cardíaca e esquelética, respectivamente.

Vários são os fatores capazes de controlar o tônus vascular e, consequentemente, o fluxo sanguíneo para determinado território. Dentre estes fatores, destacam-se: o tônus miogênico; o controle metabólico; os fatores neurohumorais e o endotélio vascular (Delp, Laughlin, 1998; Feliciano, Henning, 1999; Komaru et al., 2000; Segal, 2005). O endotélio é capaz de regular o tônus da célula de músculo liso vascular por meio da liberação de substâncias vasodilatadoras (EDRF), como óxido nítrico (NO); prostaciclina; e fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), e de substâncias vasoconstritoras (EDCF), como endotelina-1; prostaglandinas; angiotensina II; e espécies reativas derivadas do oxigênio (Vanhoutte, 1996; Gryglewski, 2005; Vanhoutte et al., 2009). Portanto, o endotélio contribui para a manutenção da homeostase circulatória por meio de um equilíbrio na liberação de EDRF e EDCF e, qualquer mudança neste equilíbrio, resulta em um processo conhecido como disfunção endotelial (Vanhoutte, 1996; Gryglewski, 2005; Vanhoutte et al., 2009; Davel et al., 2011).

Entre os fatores endoteliais derivados do endotélio, destaca-se o NO, o qual tem um papel crucial na regulação do tônus vascular (Palmer et al., 1987; Ignarro et al., 1987; Marín, Rodrigues-Martínez, 1995; Vanhoutte, 1996; Vanhoutte et al., 2009). O NO é gerado pela sintase de óxido nítrico (NOS), a qual catalisa a

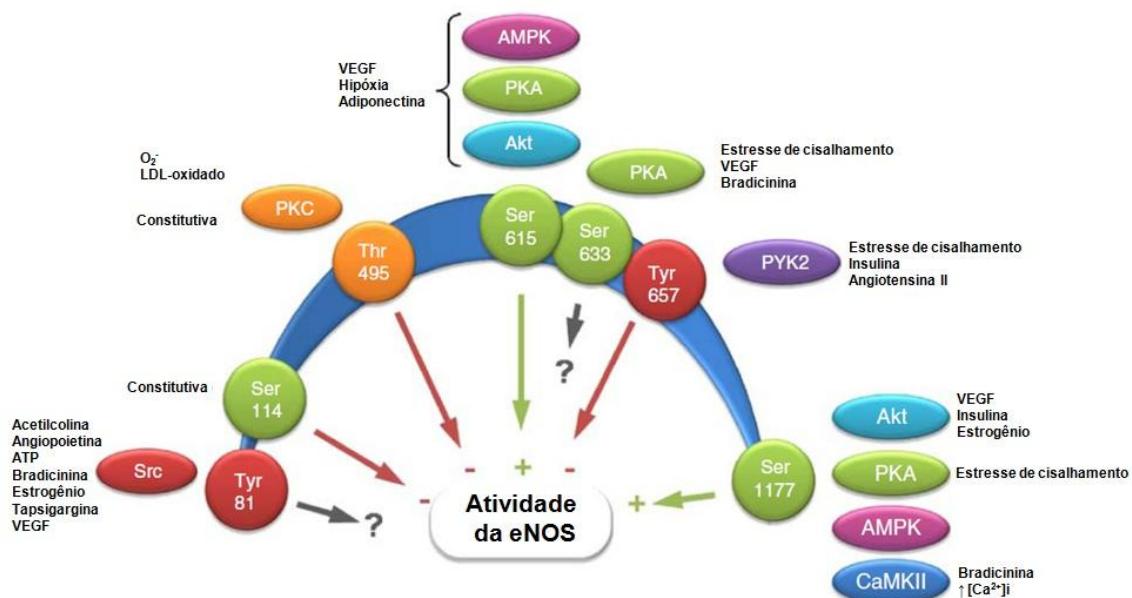
conversão do aminoácido L-arginina e o oxigênio molecular em NO e L-citrulina (Palmer et al., 1988; Marín, Rodríguez-Martínez, 1995; Alderton et al., 2001; Chatterjee et al., 2008; Fleming 2010; Förstermann, Sessa, 2011). Até o momento, foram descritos na parede vascular 3 isoformas da NOS: sintase de óxido nítrico neuronal (nNOS ou NOS I); sintase de óxido nítrico induzível (iNOS ou NOS II) e a sintase de óxido nítrico endotelial (eNOS ou NOS III) (Marín, Rodríguez-Martínez, 1995; Alderton et al., 2001; Chatterjee et al., 2008; Fleming 2010; Förstermann, Sessa, 2011). A nNOS e a eNOS são expressas constitutivamente e a ativação destas enzimas, basicamente, depende de  $\text{Ca}^{2+}$ / calmodulina, assim como por fosforilação dos sítios de ativação (Marín, Rodríguez-Martínez, 1995; Alderton et al., 2001; Chatterjee et al., 2008; Fleming 2010; Förstermann, Sessa, 2011). Já a iNOS, geralmente, não é constitutivamente expressa nas células, no entanto a expressão desta enzima pode ser induzida por citocinas, endotoxinas, lipopolissacáideos bacterianos e outros agentes. Depois de expressa, a iNOS é constantemente ativa, independente da concentração de cálcio intracelular (Marín, Rodríguez-Martínez, 1995; Alderton et al., 2001; Chatterjee et al., 2008; Fleming 2010; Förstermann, Sessa, 2011).

Em condições fisiológicas, a isoforma com maior atividade funcional nos vasos sanguíneos é a eNOS, a qual é principalmente expressa nas células endoteliais (Fleming 2010; Förstermann, Sessa, 2011); embora alguns trabalhos também atribuam o papel fisiológico da nNOS no controle do tônus vascular (Chen, Popel 2007; Seddon et al., 2009; Capettini et al., 2010). Conforme mencionado acima, com o aumento da concentração de cálcio intracelular, a atividade da eNOS aumenta. Desta forma, a tensão de cisalhamento, hormônios, peptídeos e/ ou neurohormônios ligando-se a receptores específicos na membrana da célula endotelial, induzem aumento da concentração de cálcio intracelular, sendo, portanto, capazes de ativar a eNOS e aumentar a produção de NO (Palmer et al., 1988; Marín, Rodrigues-Martízes, 1995; Vanhoutte et al., 2009; Förstermann 2010; Michel, Vanhoutte, 2010).

Estes mesmos estímulos mecânicos e/ou hormonais, nas células endoteliais, também podem regular a atividade da eNOS via fosforilação de resíduos de serina (Ser), treonina (Thr) e tirosina (Tyr) (Chen et al., 1999; Dimmeler et al., 1999; Fulton

et al., 1999; Gallis et al., 1999; Boo et al., 2002; Michell et al., 2001, 2002; Fleming et al., 2001; 2010; Föstermann 2010), tal como demonstrado na figura 1.

**Figura 1** - Regulação da eNOS por fosforilação.



Representação esquemática dos sítios de fosforilação da eNOS, assim como as consequências da ativação destes sítios na atividade da eNOS. Setas verdes representam ativação da eNOS; setas vermelhas representam inibição da eNOS; setas cinzas representam nenhum efeito direto sobre a atividade da eNOS. Os números referem-se à sequência humana.

Fonte: modificado de Fleming, 2010.

Existem numerosos sítios de fosforilação da eNOS (figura 1), no entanto, dentre estes sítios, as consequências funcionais da fosforilação dos resíduos de Ser1177 e Thr495 são as mais conhecidas (Chen et al., 1999; Dimmeler et al., 1999; Fulton et al., 1999; Gallis et al., 1999; Fleming et al., 2001; Michell et al., 2001; Fleming 2010; Föstermann 2010). A fosforilação em Ser1177 aumenta a atividade da eNOS, aumentando, assim, a produção de NO (Chen et al., 1999; Dimmeler et al., 1999; Fulton et al., 1999; Gallis et al., 1999; Michell et al., 2001; Fleming 2010; Föstermann 2010). Após estímulo mecânico e/ou hormonal nas células endoteliais, várias proteínas quinases estão envolvidas na fosforilação da eNOS em Ser1177, tais como proteína quinase B/ Akt; proteína quinase ativada por AMP (AMPK); proteína quinase A (PKA); e proteína quinase dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ / calmodulina II (CaMKII) (Chen et al., 1999; Dimmeler et al., 1999; Fulton et al., 1999; Gallis et al.,

1999; Michell et al., 2001; Fleming 2010; Föstermann 2010). Por outro lado, a fosforilação no resíduo Thr495 da eNOS diminui a atividade desta enzima. Este resíduo de Thr495 está fosforilado na ausência de estímulo, provavelmente via proteína quinase C (PKC) (Fleming et al., 2001; Michell et al., 2001; Fleming 2010; Föstermann 2010).

Depois de sintetizado nas células endoteliais, o NO se difunde para as células de músculo liso vascular e induz relaxamento nestas células (Rapoport, Murad, 1983; Marín, Rodrigues-Martízes, 1995; Lincoln et al., 2001; Vanhoutte et al., 2009). A principal ação do NO, nas células de músculo liso vascular, ocorre via ativação da guanilato ciclase solúvel (GCs), com consequente aumento da concentração intracelular de GMP cíclico (GMPc) (Rapoport, Murad, 1983; Marín, Rodrigues-Martízes, 1995; Lincoln et al., 2001; Vanhoutte et al., 2009). O GMPc, por sua vez, promove redução da concentração intracelular de cálcio, tanto por recapturar cálcio para o retículo sarcoplasmático como via extrusão de cálcio para o meio extracelular (Cornwell et al., 1991; Furukawa et al., 1991; Rembold, 1992; Marín, Rodrigues-Martízes, 1995; Lincoln et al., 2001). Além disso, o GMPc diminui o influxo de cálcio por reduzir a probabilidade de abertura dos canais para cálcio na membrana do músculo liso vascular, assim como reduz a afinidade de proteínas contráteis ao cálcio (Tare et al., 1990; McDaniel et al., 1992; Rembold, 1992; Lincoln et al., 2001). Por outro lado, o NO, via ação direta ou via ativação de GMPc, também é capaz de induzir hiperpolarização do músculo liso vascular, tanto por aumentar a probabilidade de abertura de canais para potássio sensível ao cálcio, como por ativar a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase (Tare et al., 1990; Bolotina et al., 1994; Gupta et al., 1994; Lincoln et al., 2001).

Além da importante ação vasodilatadora, o NO previne a adesão e agregação plaquetária; inibe a adesão e migração de leucócitos; inibe a proliferação das células de músculo liso vascular; limita a oxidação do LDL; estimula a angiogênese; e diminui a expressão de genes pró-inflamatórios, os quais estão aumentados na aterosclerose (Marín, Rodrigues-Martízes, 1995; Moncada, Higgs, 2006; Vanhoutte et al., 2009; Michel, Vanhoutte, 2010). Sendo assim, o NO endotelial é fisiologicamente importante na manutenção da homeostase vascular.

Pesquisas realizadas demonstram a presença de disfunção endotelial, caracterizada por redução da modulação nitrégica, em artérias de pacientes com doenças cardiovasculares, tais como hipertensão; diabetes; infarto do miocárdio; e insuficiência cardíaca (Kubo et al., 1991; Panza et al., 1993; Cosentino, Lüscher, 1998; Guazzi et al., 2009; Vanhoutte et al., 2009; Davel et al., 2011).

No Brasil, a taxa de mortalidade devido às doenças do sistema cardiovascular corresponde a 30% da mortalidade geral e, dentre as doenças cardiovasculares, o infarto do miocárdio é responsável por 24% da mortalidade (Sistema de informação de mortalidade, DATASUS do Ministério da Saúde, 2008). De acordo com o estudo “*Heart Disease and Stroke Statistics-2010 update*” realizado nos Estados Unidos e coordenado pela *American Heart Association*, 33% dos homens e 43% das mulheres, com idade acima de 40 anos e que sobreviveram após um infarto do miocárdio, irão morrer dentro de 5 anos. Além disso, também foi estimado que 7% dos homens e 12% das mulheres desenvolverão sinais e sintomas de insuficiência cardíaca.

O infarto do miocárdio ocorre quando uma isquemia prolongada leva a um dano irreversível na célula miocárdica com consequente necrose (Opie, 2004b; Antman, Braunwald, 2005; Amin, 2006; Gheorghiade, Forarow, 2007; White, Chew, 2008). Na maioria dos casos, o infarto do miocárdio é resultante de processo aterosclerótico (Burke et al., 1997; Opie, 2004b; Antman, Braunwald, 2005; Amin, 2006; White, Chew 2008); porém; também pode ser decorrente de outros processos patológicos não-aterogênicos que acometem as artérias coronárias e resultam em infarto, tais como a arterite e a trombose coronariana; oclusão coronariana por êmbolo; anomalias congênitas da artéria coronária; espasmo coronariano; além de causas hematológicas como trombocitose; coagulação intravascular disseminada; hipercoagibilidade; complicações do cateterismo cardíaco; e o abuso de cocaína (Tun, Khan, 2001; Opie 2004b; Antman, Braunwald, 2005; White, Chew 2008).

Após a oclusão da artéria coronária, os miócitos supridos por esta artéria imediatamente perdem a capacidade contrátil, podendo apresentar áreas de dissincronismo, hipocinesia, acinesia e discinesia (Opie, 2004b; Antman, Braunwald, 2005). Já o miocárdio não-infartado apresenta uma hipercinesia como resultado de mecanismos agudos de compensação, tais como ativação do sistema nervoso

simpático e do mecanismo de Frank-Starling (McAlpine et al., 1988; Cleland et al., 1996; Schrier, Abraham, 1999; Francis et al., 2001; Gaballa, Goldman, 2002; Opie, 2004b; Antman, Braunwald; 2005; Babick, Dhalla, 2007). Além do mais, em decorrência do infarto do miocárdio, também se observa remodelamento cardíaco caracterizado por hipertrofia do miocárdio não-infartado (Cleland et al., 1996; Opie, 2004b; Antman, Braunwald, 2005; Babick, Dhalla, 2007). No entanto, estes mecanismos de compensação possuem uma finita capacidade de sustentar a função cardíaca e, se o miocárdio remanescente não sustentar a hemodinâmica dentro de limites normais, os pacientes podem desenvolver insuficiência cardíaca (Opie, 2004b; Antman, Braunwald, 2005; Babick, Dhalla, 2007).

O prognóstico de pacientes infartados depende de diversos fatores, dentre estes, pode-se citar a presença de circulação coronariana colateral e o tamanho da área infartada, assim como da presença de fatores de risco, tais como, envelhecimento, hipertensão arterial e diabetes (Amir et al., 2006; White, Chew, 2008; Guazzi et al., 2009). Além disso, a presença de disfunção endotelial também pode ser considerada um importante fator envolvido no agravamento do prognóstico após o infarto do miocárdio (Amir et al., 2006; Guazzi et al., 2009). Neste sentido, foi observado que, após o infarto do miocárdio, alguns pacientes apresentavam disfunção endotelial, caracterizada pela redução da dilatação mediada pelo fluxo na artéria braquial; enquanto que, em outros pacientes infartados, este relaxamento era preservado (Amir et al., 2006; Guazzi et al., 2009). Nestes trabalhos, a presença de disfunção endotelial nos pacientes infartados estava associada a um pior prognóstico, como infarto do miocárdio recorrente e insuficiência cardíaca (Amir et al., 2006; Guazzi et al., 2009). Baseados em tais fatos expostos acima, torna-se de fundamental importância o melhor entendimento dos ajustes da função vascular e os possíveis mecanismos envolvidos nas alterações vasculares observadas após o infarto do miocárdio.

Experimentalmente, as repercussões cardíacas e vasculares decorrentes do infarto do miocárdio podem ser estudadas no modelo de oclusão cirúrgica permanente de ramos da artéria coronária em ratos (Pfeffer et al., 1979; Mill et al., 1990; Francis et al., 2001; Gaballa, Goldman, 2002; dos Santos et al., 2010). Pfeffer e colaboradores (1979) foram os primeiros pesquisadores a caracterizar a função

cardíaca neste modelo experimental. Estes pesquisadores observaram que o desempenho cardíaco após o infarto do miocárdio em ratos está na dependência do tamanho da área de infartada, e somente os animais com grandes áreas de infarto (45-59% da circunferência do ventrículo esquerdo) apresentaram hipertrofia ventricular direita; aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; e redução do débito cardíaco, características estas presentes na insuficiência cardíaca. Um aspecto importante deste modelo experimental é que quaisquer que sejam as disfunções que surjam após o infarto, elas serão sempre reflexo da oclusão aguda da artéria coronariana, sem qualquer interferência de outros fatores de risco associados, como aterosclerose, hipercolesterolemia, diabetes ou hipertensão arterial.

Neste modelo experimental, a maioria dos estudos avalia a função vascular após a instalação da insuficiência cardíaca e, nestes trabalhos, o que se observa é a presença de disfunção endotelial, caracterizada por redução da modulação nitrérgica, em vasos de condutância, como a aorta (Teerlink et al., 1993; Bauersaches et al., 1999; 2001; 2002; Indik et al., 2001; Gschwend et al., 2003; Schäfer et al., 2003; 2004; Thai et al., 2007; Fraccarollo et al., 2008). Esta redução da modulação nitrérgica está associada à menor síntese de NO, em decorrência da redução da expressão e/ou atividade da eNOS (Schäfer et al., 2004; Fraccarollo et al., 2008). Além disso, pesquisas realizadas demonstram que, neste mesmo modelo experimental, a redução da modulação nitrérgica também pode ser decorrente de redução da biodisponibilidade do NO, devido ao aumento da produção e/ ou menor degradação de espécies reativas derivadas do oxigênio, principalmente o ânion superóxido (Bauersaches et al., 1999; 2001; 2002; Indik et al., 2001; Schäfer et al., 2004; Fraccarollo et al., 2008).

O ânion superóxido reage rapidamente com o NO levando a formação de um potente oxidante, o peróxido nitrito, e, deste modo, reduz a biodisponibilidade do NO (Rubany, Vanhoutte, 1986; Beckman et al., 1990; Padmaja, Huie, 1993; Marín, Rodrigues-Martínez, 1995; Thomas et al., 2008; Föstermann 2010). Várias enzimas são capazes de liberar elétrons, os quais podem reduzir o oxigênio molecular, levando a formação do ânion superóxido, tais como: NAD(P)H oxidase; xantina oxidase; enzimas da cadeia respiratória da mitocôndria; e eNOS desacoplada

(Thomas et al., 2008; Förstermann 2010). Por outro lado, a inativação dos radicais livres é feita por sistemas enzimáticos eficientes, tais como: glutatona peroxidase; catalase; e superóxido dismutase (SOD) (Thomas et al., 2008; Förstermann 2010; Fukai, Ushio-Fukai et al., 2011). Dentre estas enzimas antioxidantes, a SOD tem um papel crucial na defesa antioxidant, uma vez que esta enzima cataliza a dismutação do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio, sendo assim, o maior sistema de defesa antioxidante contra o ânion superóxido (Thomas et al., 2008; Förstermann, 2010; Fukai, Ushio-Fukai et al., 2011). A SOD consiste em 3 isoformas: 1) Cu/Zn-SOD ou SOD-1, a qual está presente no citosol; 2) Mn-SOD ou SOD-2, a qual está presente nas mitocôndrias; e 3) SOD extracelular (EC-SOD) ou SOD-3 (Thomas et al., 2008; Förstermann, 2010; Fukai, Ushio-Fukai et al., 2011).

Na aorta de ratos infartados por oclusão permanente da artéria coronária, há relatos de que o aumento da geração de ânion superóxido é proveniente da NAD(P)H oxidase (Bauersachs et al., 1999; 2002) e/ ou devido à redução da defesa antioxidant, por exemplo, por redução da atividade da SOD (Indik et al., 2001).

Um fato interessante é que a presença de disfunção endotelial na aorta de ratos infartados parece depender do tempo após o infarto do miocárdio (Teerlink et al., 1993). Neste sentido, Teerlink e colaboradores (1993) observaram que, após 1 semana do infarto, os anéis de aorta não demonstraram evidências de disfunção endotelial, apesar dos animais já apresentarem hemodinâmica ventricular comprometida; entretanto progressiva disfunção endotelial foi observada após 4 e 16 semanas de infarto quando comparado aos ratos controle (Teerlink et al., 1993). Estes pesquisadores concluíram que a disfunção endotelial é um processo progressivo e dependente do tempo, apresentando menor papel em estágios iniciais após o infarto e que, na aorta, a disfunção endotelial não é resultado direto de disfunção na hemodinâmica ventricular (Teerlink et al., 1993).

Por outro lado, existem relatos na literatura de que, após o infarto do miocárdio em ratos, as artérias apresentam ajustes vasculares diferentes na dependência da área de infarto, assim como do estado da função cardíaca pós-infarto (Thomas et al., 1998; Gschwend et al., 2003; Pereira et al., 2005).

Gschwend e colaboradores (2003) demonstraram que a disfunção endotelial na aorta de ratos infartados somente esteve presente nos animais com grandes

áreas de infarto e, portanto, com sinais de falência cardíaca. Ao passo que, na aorta dos animais com pequenas áreas de infarto e com hemodinâmica ventricular similar aos controles, o relaxamento dependente do endotélio estava aumentado quando comparado às artérias dos animais controles (Gschwend et al., 2003). Este trabalho sugere que a presença de disfunção endotelial na aorta de ratos infartados está na dependência da área de infarto e, portanto, da severidade da doença após o infarto do miocárdio.

Além disso, Pereira e colaboradores (2005) observaram que função no leito arterial caudal de ratos estava diferentemente modulada nos animais infartados com e sem sinais de insuficiência cardíaca e, portanto, com diferentes estágios de disfunção ventricular pós-infarto. Neste trabalho, estes pesquisadores demonstraram que, 4 semanas após o infarto do miocárdio em ratos, alguns animais apresentavam sinais de insuficiência cardíaca enquanto que outros não, apesar de apresentarem a mesma área de infarto (Pereira et al., 2005). Estes autores, por sua vez, observaram a presença de disfunção endotelial somente no leito arterial caudal de ratos infartados sem sinais de insuficiência cardíaca (Pereira et al., 2005). Já no leito caudal dos animais infartados com sinais de insuficiência cardíaca, a modulação endotelial estava aumentada, o que sugere a possível presença de mecanismos compensatórios para a redução do débito cardíaco e da perfusão tecidual na insuficiência cardíaca (Pereira et al., 2005). A presença de disfunção endotelial em animais infartados, sem sinais de insuficiência cardíaca, também foi observada em artérias do músculo esquelético de ratos infartados, com pequenas e médias áreas de infarto (Thomas et al., 1998).

Baseado no exposto acima, conclui-se que a função vascular pode estar diferentemente modulada de acordo com o tempo, a área de infarto e a severidade da doença após o infarto do miocárdio. No entanto, ainda há muito a ser esclarecido sobre as repercussões vasculares pós-infarto e as possíveis implicações destas alterações no desenvolvimento e/ou manutenção da falência cardíaca após o infarto do miocárdio.

Dentre os vasos sanguíneos, o estudo das alterações funcionais em artérias de resistência após o infarto do miocárdio é imprescindível, uma vez que estas artérias são responsáveis pelo controle do fluxo sanguíneo e, consequentemente,

pela redistribuição do débito cardíaco, o qual pode estar reduzido após o infarto do miocárdio. No entanto, diferente do observado na aorta de ratos infartados, ainda não é consenso na literatura a presença de disfunção endotelial em vasos de resistência após o infarto do miocárdio. Neste sentido, tem-se demonstrado que o relaxamento dependente do endotélio pode estar reduzido (Thuillez et al., 1995; Mulder et al., 1995; 1996; Didion, Mayham, 1997; Gaballa, Goldman, 1999; Varin et al., 1999; 2000; Wang et al., 2010) ou inalterado (Baggia et al., 1997; Prior et al., 1998; Trautner et al., 2006; Xu et al., 2007) em artérias de resistência do leito mesentérico e muscular esquelético. Essa discrepância de relatos da literatura pode ser devido às distintas fases da disfunção cardíaca pós-infarto do miocárdio em ratos.

Em meio às artérias de resistência, o estudo da função vascular em artérias de resistência da musculatura esquelética após o infarto do miocárdio merece atenção, pois um aumento do tônus destas artérias poderia contribuir para o aumento da resistência periférica total e, assim, aumentar a pós-carga contra a qual o coração, previamente prejudicado em decorrência do infarto, terá que ejetar sangue. Além disso, já é bem descrito que os pacientes com insuficiência cardíaca apresentam fadiga muscular esquelética nos membros, a qual é mais claramente demonstrada em resposta ao aumento dos níveis de esforço, como durante uma atividade física. Esta fadiga, em parte, é atribuída à redução do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética durante o exercício (Wilson et al., 1984; Minotti et al., 1991; Duscha et al., 2008; Negrão, Middlekauff, 2008). Sendo assim, um aumento no tônus das artérias que irrigam a musculatura esquelética pode prejudicar o fluxo para a região esquelética agravando a fadiga muscular observada após a falência cardíaca.

Até o presente momento, existe um número limitado de trabalhos que avaliam a função endotelial em arteríolas do leito muscular esquelético de ratos infartados após oclusão permanente da artéria coronária e, nestes trabalhos, foi observado que o relaxamento dependente do endotélio está reduzido (Mulder et al., 1996; Didion, Mayham, 1997; Gaballa, Goldman, 1999; Varin et al., 1999; 2000).

Além das artérias de resistência do leito muscular esquelético, o estudo das artérias coronárias após o infarto do miocárdio também merece atenção, uma vez

que estas artérias são as responsáveis pela nutrição dos miócitos não-infartados, os quais se encontram hipertrofiados após o infarto. Deste modo, o aumento no tônus das artérias coronárias que irrigam os miócitos não-infartados poderia contribuir para a redução do fluxo sanguíneo coronariano e, consequentemente, reduzir a demanda de nutrientes para o miocárdio, o que poderia agravar o estado contrátil dos miócitos remanescentes e, portanto, agravar, ainda mais, o desempenho cardíaco após o infarto do miocárdio.

Atualmente os relatos sobre a função coronariana após o infarto do miocárdio em ratos ainda são escassos e imprecisos (Berges et al., 2005; Ueda et al., 2005). Segundo Ueda e colaboradores (2005), o relaxamento mediado pelo fluxo nas artérias coronárias não está alterado; porém, estes autores observaram que, enquanto no animal controle este relaxamento era principalmente mediado pelo NO, nos animais infartados este relaxamento era principalmente mediado pelo EDHF. Estes resultados sugerem que, em arteríolas coronárias de ratos com infarto do miocárdio, o EDHF pode compensar a perda de NO mediando o relaxamento quando estimulado via estresse de cisalhamento (Ueda et al., 2005). Já Berges e colaboradores (2005), através da perfusão do coração pela técnica de Langerdoff, descreveram a presença de disfunção endotelial nas artérias coronárias de ratos, uma semana após o infarto do miocárdio.

Com base no exposto acima, pode-se inferir que ainda há muito a ser esclarecido sobre as repercussões vasculares pós-infarto, principalmente em artérias de resistência do leio muscular esquelético e coronariano, e as possíveis implicações destas alterações vasculares no desenvolvimento e/ ou manutenção da falência cardíaca pós-infarto do miocárdio.

Sabendo que, após o infarto do miocárdio em ratos induzido por oclusão da artéria coronária, observam-se animais com disfunção ventricular em distintos graus de severidade, a hipótese da presente tese é que a função vascular nas artérias de resistência do leito muscular esquelético e coronariano está diferentemente alterada na dependência da severidade da doença após o infarto do miocárdio.

## 2 OBJETIVO

A presente tese tem como **objetivo geral** avaliar a função vascular em artérias de resistência do leito muscular esquelético e em artérias coronárias septais de ratos com disfunção ventricular esquerda leve e severa após o infarto do miocárdio.

## 6 CONCLUSÃO

De posse dos resultados obtidos na presente tese, pode-se concluir que a reatividade nas artérias coronárias septais, assim como nas artérias de resistência do leito muscular esquelético, é modulada diferentemente na dependência do estado da função cardíaca pós-infarto do miocárdio.

Neste sentido, nas artérias coronárias septais dos animais infartados com severa disfunção cardíaca após o infarto do miocárdio (INF SDV) observa-se redução das respostas de relaxamento, as quais podem prejudicar a nutrição do tecido cardíaco agravando, ainda mais, o desempenho cardíaco após o infarto do miocárdio. Já em artérias periféricas, a presença de disfunção endotelial nas artérias de resistência do leito muscular esquelético dos animais INF SDV poderia contribuir para o aumento da resistência vascular periférica e, consequentemente, da pós-carga contra a qual o coração, já prejudicado em decorrência do infarto, terá que ejetar sangue. Além disso, a disfunção endotelial nas artérias de resistência do leito muscular esquelético pode levar à redução da perfusão para a musculatura esquelética, o que poderia estar envolvido na gênese da fadiga muscular esquelética observada na falência cardíaca, tal como na insuficiência cardíaca.

Por outro lado, de forma inédita, as coronárias dos animais com leve disfunção cardíaca pós-infarto do miocárdio (INF LDV) apresentam ajustes vasculares compensatórios, tais como aumento das respostas de relaxamento em decorrência da maior modulação nitrérgica, a qual decorreu de maior síntese e maior biodisponibilidade de óxido nítrico. Estes mecanismos compensatórios, observados nas coronárias dos animais INF LDV, por aumentar o fluxo coronariano e, assim, manter uma adequada perfusão para o miocárdio remanescente, poderiam estar envolvidos na prevenção do agravamento do desempenho cardíaco após o infarto do miocárdio. No entanto, este mecanismo de ajuste vascular é uma especificidade das artérias coronárias, uma vez que, perifericamente, em artérias de resistência do leito muscular esquelético destes animais, as respostas de relaxamento foram preservadas.

## REFERÊNCIAS

- Akamine EH, Kawamoto EM, Scavone C, Nigro D, Carvalho MH, de Cássia A Tostes R, Britto LR, Fortes ZB. Journal of Vascular Research. 2006;43 (4):309-320.
- Akimoto Y, Horinouchi T, Shibano M, Matsushita M, Yamashita Y, Okamoto T, Yamaki F, Tanaka Y, Koike K. Nitric oxide (NO) primarily accounts for endothelium-dependent component of  $\beta$ -adrenoceptor-activated smooth muscle relaxation of mouse aorta in response to isoprenaline. Journal of Smooth Muscle Research. 2002;38(4,5):87-99.
- Alderton WK, Cooper CE, Knoles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. The Biochemical Journal. 2001;357:593-615.
- Altman JD, Kinn J, Duncker DJ, Bache RJ. Effect of inhibition of nitric oxide formation on coronary blood flow during exercise in the dog. Cardiovascular Research. 1994;28 (1):119-124.
- Amezcua JL, Palmer RMJ, Souza BM, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit. British Journal Phamacology. 1989;97:1119-1124.
- Amin A. Improving the management of patients after myocardial infarction, from admission to discharge. Clinical Therapeutics. 2006;28(10):1509-1539.
- Amir O, Jaffe R, Shiran A, Flugelman MY, Halon DA, Lewis BS. Brachial reactivity and extent of coronary artery disease in patients with first ST-elevation acute myocardial infarction. The American Journal of Cardiology. 2006;98(6):754-757.
- Antman EM, Braunwald E. ST-elevation myocardial infarction: pathology, pathophysiology, and clinical features. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.1141-1165.
- Antonio EL, Dos Santos AA, Araujo SR, Bocalini DS, Dos Santos L, Fenelon G, Franco MF, Tucci PJ. Left ventricle radio-frequency ablation in the rat: a new model of heart failure due to myocardial infarction homogeneous in size and low in mortality. Journal of Cardiac Failure. 2009;15(6):540-548.
- Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G. Myocardial response to infarction in the rat. Morphometric measurements of infarct size and myocyte cellular hypertrophy. American Journal of Pathology. 1985;484-492.

Babick AP, Dhalla NS. Role of subcellular remodeling in cardiac dysfunction due to congestive heart failure. *Medical Principles and Practical*. 2007;16: 81-89.

Baggia S, Perkins K, Greenberg B. Endothelium-dependent relaxation is not uniformly impaired in chronic heart failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1997;29(3):389-396.

Barbato E. Role of adrenergic receptors in human coronary vasomotion. *Heart*. 2009;95(7):603-608.

Barlow RS, White RE. Hydrogen peroxide relaxes porcine coronary arteries by stimulating BKCa channel activity. *American Journal of Physiology*. 1998;275(4 Pt 2):H1283-H1289.

Barlow RS, El-Mowafy AM, White RE. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> opens BK(Ca) channels via the PLA(2)-arachidonic acid signaling cascade in coronary artery smooth muscle. *American Journal Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2000;279(2):H475-H483.

Bauersachs J, Bouloumié A, Fraccarollo D, Hu K, Busse R, Ertl G. Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increase vascular endothelial nitric oxide syntase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. *Circulation*. 1999;100: 292-298.

Bauersachs J, Fleming I, Fraccarollo D, Busse R, Ertl G. Prevention of endothelial dysfunction in heart failure by vitamin E: attenuation of vascular superoxide anion formation and increase in soluble guanylyl cyclase expression. *Cardiovascular Research*. 2001;51(2):344-350.

Bauersachs J, Heck M, Fraccarollo D, Hildemann SK, Ertl G, Wehling M, Christ M. Addition of spironolactone to angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure improves endothelial vasomotor dysfunction: role of vascular superoxide anion formation and endothelial nitric oxide synthase expression. *Journal of the American College Cardiology*. 2002;39(2):351-358.

Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxy nitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 1990;87(4):1620-1624.

Berges A, Van Nassauw L, Timmermans JP, Vrints C. Role of nitric oxide during coronary endothelial dysfunction after myocardial infarction. *European Journal of Pharmacology*. 2005;516:60-70.

Berges A, Van Nassauw L, Timmermans JP, Vrints C. Time-dependent expression pattern of nitric oxide and superoxide after myocardial infarction in rats. *Pharmacological Research*. 2007;55(1):72-9.

Bitar F, Lerman A, Akhter MW, Hatamizadeh P, Janmohamed M, Khan S, Elkayam U. Variable response of conductance and resistance coronary arteries to endothelial stimulation in patients with heart failure due to nonischemic dilated cardiomyopathy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology Therapy*. 2006;11(3):197-202.

Blankesteijn WM, Thien T. Effect of NG-monomethyl-L-arginine on the beta-adrenoceptor-mediated relaxation of rat mesenteric resistance arteries. *Life Science*. 1993;52(16):PL135-PL139.

Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PJ, Cohen RA. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*. 1994;368(6474):850-853.

Boo YC, Sorescu G, Boyd N, Shiojima I, Walsh K, Du J, Jo H. Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms: role of protein kinase A. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(5):3388-3396.

Briones AM, Daly CJ, Jimenez-Altayo F, Martinez-Revelles S, Gonzales JM, McGrath JC, Vila E. Direct demonstration of  $\beta$ 1 and evidence against  $\beta$ 2- and  $\beta$ 3-adrenoceptors, in smooth muscle cells of rat small mesenteric arteries. *British Journal of Pharmacology*. 2005;146(5):679-691.

Burger DE, Lu X, Lei M, Xiang FL, Hammoud L, Jiang M, Wang H, Jones DL, Sims SM, Feng Q. Neuronal nitric oxide synthase protects against myocardial infarction-induced ventricular arrhythmia and mortality in mice. *Circulation*. 2009;120(14):1345-1354.

Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *New England Journal of Medicine*. 1997;336(18): 1276-1282.

Capettini LS, Cortes SF, Gomes MA, Silva GA, Pesquero JL, Lopes MJ, Teixeira MM, Lemos VS. Neuronal nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide is a major endothelium-dependent relaxing factor. *American Journal Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2008;295(6):H2503-H2511.

Capettini LS, Cortes SF, Lemos VS. Relative contribution of eNOS and nNOS to endothelium-dependent vasodilation in the mouse aorta. *European Journal of Pharmacology*. 2010;643(2-3):260-266.

Ceravolo GS, Fernandes L, Munhoz CD, Fernandes DC, Tostes RC, Laurindo FR, Scavone C, Fortes ZB, Carvalho MH. Angiotensin II chronic infusion induces B1 receptor expression in aorta of rats. *Hypertension*. 2007;50(4):756-61.

Chatterjee A, Black SM, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascular Pharmacology*. 2008;49:134-140.

- Chen K, Popel AS. Vascular and perivascular nitric oxide release and transport: biochemical pathways of neuronal nitric oxide synthase (NOS1) and endothelial nitric oxide synthase (NOS3). *Free Radical Biology & Medicine*. 2007;42(6):811-822.
- Chen Y, Hou M, Li Y, Traverse JH, Zhang P, Salvemini D, Fukai T, Bache RJ. Increased superoxide production causes coronary endothelial dysfunction and depressed oxygen consumption in the failing heart. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2005;288(1):H133-H141.
- Chen ZP, Mitchelhill KI, Michell BJ, Stapleton D, Rodrigues-Crespo I, Witters LA, Pwer DA, Montellano PRO; Kemp BE. AMP-activated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase. *FEBS Letters*. 1999;443:285-289.
- Chu A, Chambers DE, Lin CC, Kuehl WD, Palmer RMJ, Moncada S, Cobb FR. Effects of inhibition of nitric oxide formation on basal vasomotion and endothelium-dependent responses of coronary arteries in awake dogs. *The Journal of Clinical Investigation*. 1991;87:1964-1968.
- Cleland JG, Cowburn PJ, Morgan K. Neuroendocrine activation after myocardial infarction: causes and consequences. *Heart*. 1996;76(3 Suppl 3):53-9.
- Comini L, Bachetti T, Gaia G, Pasini E, Agnelli L, pepi P, Ceconi C, Curello S, Ferrari R. Aorta and skeletal muscle NO synthase expression in experimental heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1996;28:2241-2248.
- Cosentino F, Lüscher TF. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1998;32 Suppl 3:S54-61.
- Cornwell TL, Pryzwansky KB, Wyatt TA, Lincoln TM. Regulation of sarcoplasmic reticulum protein phosphorylation by localized cyclic GMP-dependent protein kinase in vascular smooth muscle cells. *Molecular Pharmacology*. 1991;40(6):923-931.
- da Cunha V, Stefanon I, Mill JG. Role of nitric oxide in mediating cardiovascular alterations accompanying heart failure in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2004;82:372-379.
- Davel AP, Kawamoto EM, Scavone C, Vassallo DV, Rossoni LV. Changes in vascular reactivity following administration of isoproterenol for 1 week: a role for endothelial modulation. *British Journal of Pharmacology*. 2006;148(5):629-39.
- Davel AP, Wenceslau CF, Akamine EH, Xavier FE, Couto GK, Oliveira HT, Rossoni LV. Endothelial dysfunction in cardiovascular and endocrine-metabolic diseases: an update. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2011;44(9):920-932.
- Davis E, Loiacono R, Summers RJ. The rush to adrenaline: drugs in sport acting on the beta-adrenergic system. *British Journal of Pharmacology*. 2008;154(3):584-597.

Dawes M, Chowienczuk PJ, Ritter JM. Effects of inhibition of the L-arginine/nitric oxide pathway on vasodilation caused by beta-adrenergic agonists in human forearm. *Circulation*. 1997;95(9):2293-2297.

DeFelice A, Frering R, Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *American Journal of Physiology*. 1989;257(1 Pt 2):H289-H296.

Delp MD, Laughlin MH. Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1998;162(3):411-419.

Didion SP, Mayham WG. Effect of chronic myocardial infarction in vivo reactivity of skeletal muscle arterioles. *The American Journal of Physiology*. 1997;272:H2403-H2408.

Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher Am. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*. 1999;399:601-605.

dos Santos L, Antonio EL, Souza AF, Tucci PJ. Use of afterload hemodynamic stress as a practical method for assessing cardiac performance in rats with heart failure. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2010;88(7):724-732.

Duscha BD, Schulze PC, Robbins JL, Forman DE. Implications of chronic heart failure on peripheral vasculature and skeletal muscle before and after exercise training. *Heart Failure Review*. 2008;13(1):21-37.

Feliciano L, Henning RJ. Coronary artery blood flow: physiologic and pathophysiologic regulation. *Clinical Cardiology*. 1999;22(12):775-786.

Fernández N, Sánchez MA, Martínez MA, García-Villalón AL, Monge L, Gómez B, Diéguez G. Role of nitric oxide in vascular tone and in reactivity to isoproterenol and adenosine in the goat coronary circulation. *European Journal of Pharmacology*. 2000;387(1):93-99.

Ferro A, Coash M, Yamamoto T, Rob J, Ji Y, Queen L. Nitric oxide- dependent through activation of both protein kinase A and Akt. *British Journal of Pharmacology*. 2004;143:397-403.

Figueroa XF, Poblete I, Fernández R, Pedemonte C, Cortés V, Huidobro-Toro JP. NO production and eNOS phosphorylation induced by epinephrine through the activation of beta-adrenoceptors. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2009;297(1):H134-H143.

Fischer D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B, Drexler H. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *European Heart Journal*. 2005;26(1):65-69.

Fleming I. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. *Pflugers Archiv: European Journal of physiology.* 2010;459(6):793-806.

Fleming I, Fisslthaler B, Dimmeler S, Kemp BE, Busse R. Phosphorylation of Thr(495) regulates Ca(2+)/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity. *Circulation Research.* 2001;88(11):E68-75.

Flumignan RLG, Kanashiro RM, Saraiva RM, Portes LA, Antonio EL, Ishigai MMS, Tucci PJF. Incidence of heart failure in infarcted rats that die spontaneously. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2006;39:1323-1328.

Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology.* 2010;459(6):923-39.

Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal.* 2011;[Epub ahead of print].

Fraccarollo D, Widder JD, Galuppo P, Thum T, Tsikas D, Hoffmann M, Ruetten H, Ertl G, Bauersachs J. Improvement in left ventricular remodeling by the endothelial nitric oxide synthase enhancer AVE9488 after experimental myocardial infarction. *Circulation.* 2008;118(8):818-827.

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 2001;281(5):R1734- R1745.

Frey MJ, Lanoce V, Molinoff PB, Wilson JR. Skeletal muscle beta-receptors and isoproterenol-stimulated vasodilation in canine heart failure. *Journal of Applied Physiology.* 1989;67(5):2026-2031.

Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidant & Redox Signaling.* 2011;15(6):1583-1606.

Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K, Franke TF, Papapetropoulos A, Sessa WC. Regulation of endothelium derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature.* 1999;399: 597-601.

Furukawa K, Ohshima N, Tawada-Iwata Y, Shigekawa M. Cyclic GMP stimulates Na+/Ca<sup>2+</sup> exchange in vascular smooth muscle cells in primary culture. *The Journal of Biological Chemistry.* 1991;266(19):12337-41.

Gaballa MA, Eckhart A, Kosh WJ, Goldman S. Vascular β-adrenergic receptor is dysfunctional after myocardial infarction. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology.* 2001;280:H1129-H1135.

Gaballa MA, Goldman S. Overexpression of endothelium nitric oxide synthase reverses the diminished vasorelaxation in the hindlimb vasculature in ischemic heart failure in vivo. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 1999;31(6):1243-52.

Gaballa MA, Goldman S. Ventricular remodeling in heart failure. *Journal of Cardiac Failure.* 2002; 8(6 Suppl):S476-85.

Gallis B, Corthals GL, Goodlett DR, Ueba H, Kim F, Presnell SR, Figeys D, Harrison DG, Berk BC, Aebersold R, Corson MA. Identification of flow-dependent endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation sites by mass spectrometry and regulation of phosphorylation and nitric oxide production by the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor LY294002. *The Journal of Biological Chemistry.* 1999;274(42):30101-30108.

García JL, Fernández N, García-Villalón AL, Monge L, Gómez B, Diéguez G. Effects of nitric oxide synthesis inhibition on the goat coronary circulation under basal conditions and after vasodilator stimulation. *British Journal Pharmacology.* 1992;106: 563-567.

Gheorghiade M, Forarow GC. Management of post-myocardial infarction patients with left ventricular systolic function. *The American Journal of Medicine.* 2007;120: 109-120.

Givertz MM, Colucci WS, Braunwald E. Clinical Aspects of Heart Failure; Pulmonary Edema, High-Output Failure. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. *Braunwald's Heart Disease.* 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; p.539-568, 2005.

Grieve DJ, MacCarthy PA, Gall NP, Cave AC, Shah AM. Divergent biological actions of coronary endothelial nitric oxide during progression of cardiac hypertrophy. *Hypertension.* 2001;38(2):267-273.

Gryglewski RJ. Pharmacology of vascular endothelium. Delivered on 27 June 2004 at the 29th FEBS Congress in Warsaw. *FEBS J.* 2005;272(12):2956-67.

Gschwend S, Buikema H, Henning RH, Pinto YM, Zeeuw D, Van Gilst WH. Endothelial dysfunction and infarct-size relate to impaired EDHF response in rat experimental chronic heart failure. *The European Journal of Heart Failure.* 2003;5:147-154.

Guazzi M, Reina G, Gripari P, Tumminello G, Vicenzi M, Arena R. Prognostic value of flow-mediated dilatation following myocardial infarction. *International Journal of Cardiology.* 2009;132(1):45-50.

Guimarães S, Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacological Reviews.* 2001;53:319-356.

Gupta S, McArthur C, Grady C, Ruderman NB. Stimulation of vascular Na(+)-K(+)ATPase activity by nitric oxide: a cGMP-independent effect. *The American Journal of Physiology.* 1994;266(5 Pt 2):H2146-2151.

Holdright DR, Clarke D, Fox K, Poole-Wilson PA, Collins P. The effects of intracoronary substance P and acetylcholine on coronary blood flow in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. European Heart Journal. 1994;15(11):1537-1544.

Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American. 1987; 84(24):9265-9269.

Indik JH, Goldman S, Gaballa MA. Oxidative stress contributes to vascular endothelial dysfunction in heart failure. American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology. 2001;281(4):H1767- H1770.

Inoue T, Sakai Y, Morooka S, Hayashi T, Takayanagi K, Yamaguchi H, Kakoi H, Takabatake Y. Vasodilatory capacity of coronary resistance vessels in dilated cardiomyopathy. The American Heart Journal. 1994;127(2):376-381.

Jones SP, Greer JJ, van Haperen R, Duncker DJ, de Crom R, Lefer DJ. Endothelial nitric oxide synthase overexpression attenuates congestive heart failure in mice. Proceddings of the National Academy of Science of the United States of American. 2003;100(8):4891-6.

Kamata K, Mivata N, Kasuya Y. Involvement of endothelial cells in relaxation and contraction responses of the aorta to isoproterenol in naive and streptozotocin-induced diabetic rats. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1989;249(3):890-894.

Katz SD, Hryniwicz K, Hriljac I, Balidemaj K, Dimayuga C, Hudaihed A, Yasskiy A. Vascular endothelial dysfunction and mortality risk in patients with chronic heart failure. Circulation. 2005;111(3):310-314.

Kitayama J, Kitazono T, Ibayashi S, Wakisaka M, Watanabe Y, Kamouchi M, Nagao T, Fujishima M. Role of phosphatidylinositol 3-kinase in acetylcholine-induced dilatation of rat basilar artery. Stroke. 2000;31(10):2487-2493.

Kiuchi K, Sato N, Shannon RP, Vatner DE, Morgan K, Vatner SF. Depressed beta-adrenergic receptor- and endothelium-mediated vasodilation in conscious dogs with heart failure. Circulation Research. 1993;73(6):1013-1023.

Koida S, Ohyanagi M, Ueda A, Mori Y, Iwasaka T. Mechanism of increased alpha-adrenoceptor-mediated contraction in small resistance arteries of rats with heart failure. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology. 2006;33(1-2):47-52.

Kojima H, Nakatubo N, Kikuchi K, Kawahara S, Kirino Y, Nagoshi H, Hirata Y, Nagano T. Detection and imaging of nitric oxide with novel fluorescent indicators: diaminofluoresceins. Analytical Chemistry. 1998;70: 2446-2453.

Komaru T, Kanatsuka H, Shirato K. Coronary microcirculation: physiology and pharmacology. *Pharmacology & Therapeutics*. 2000;86: 217-261.

Kubo SH, Rector TS, Bank AJ, Williams RE, Heifetz SM. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation*. 1991;84(4):1589-1596.

Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, Harrison DG, Hornig B, Drexler H. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation*. 2002;106(24):3073-3078.

Larosa G, Forster C. Altered vasodilator response of coronary microvasculature in pacing-induced congestive heart failure. *European Journal of Pharmacology*. 1996;138:387-394.

Lida S, Chu Y, Francis J, Weiss RM, Gunnett CA, Faraci FM, Heistad DD. Gene transfer of extracellular superoxide dismutase improves endothelial function in rats with heart failure. *American Journal of the Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2005;289(2):H525-32.

Lincoln TM, Dey N, Sellak H. Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression. *Journal of Applied Physiology*. 2001;91(3):1421-1430.

Litwin SE, Litwin CM, Raya TE, Warner AL, Goldman S. Contractility and stiffness of noninfarcted myocardium after coronary ligation in rats. Effects of chronic angiotensin converting enzyme inhibition. *Circulation*. 1991;83(3):1028-37.

Lynch FM, Austin C, Heagerty AM, Izzard AS. Adenosine and hypoxic dilation of rat coronary small arteries: roles of the ATP-sensitive potassium channel, endothelium, and nitric oxide. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2006;290:H1145-H1150.

Machackova J, Sanganalmath SK, Barta J, Dhalla KS, Dhalla NS. Amelioration of cardiac remodeling in congestive heart failure by beta-adrenoceptor blockade is associated with depression in sympathetic activity. *Cardiovascular Toxicology*. 2010;10(1):9-16.

Mallem Y, Holopherne D, Reculeau O, LeCoz O, Dessfontis JC, Gogny M.  $\beta$ -adrenoceptor mediated vascular relaxation in spontaneously hypertensive rats. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*. 2005;118:61-67.

Marín J, Rodríguez-Martínez MA. Nitric oxide, oxygen-derived free radicals and vascular endothelium. *Journal of Autonomic Pharmacology*. 1995;15: 279-307.

Mathew R, Wang J, Gewitz MH, Hintze TH, Wolin MS. Congestive heart failure alters receptor-dependent cAMP-mediated relaxation of canine pulmonary arteries. *Circulation*. 1993;87(5):1722-1728.

McAlpine HM, Morton JJ, Leckie B, Rumley A, Gillen G, Dargie HJ. Neuroendocrine activation after acute myocardial infarction. *British Heart Journal*. 1988;60(2):117-124.

McDaniel NL, Chen XL, Singer HA, Murphy RA, Rembold CM. Nitrovasodilators relax arterial smooth muscle by decreasing  $[Ca^{2+}]_i$  and uncoupling stress from myosin phosphorylation. *The American Journal of Physiology*. 1992;263(2 Pt 1):C461-467.

Michel T, Vanhoutte PM. Cellular signaling and NO production. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*. 2010;459(6):807-816.

Michell BJ, Chen ZP, Tiganis T, Stapleton D, Katsis F, Pwer DA, Sim AT, Kemp BE. Coordinated control of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by protein kinase C and the cAMP-dependent protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(21):17625-17628.

Michell BJ, Harris MB, Chen ZP, Ju H, Venema VJ, Blackstone MA, Huang W, Venema RC, Kemp BE. Identification of regulatory sites of phosphorylation of the bovine endothelial nitric-oxide synthase at serine 617 and serine 635. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(44):42344-42351.

Mill JG, Stephanon I, Leite CM, Vassallo DV. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research*. 1990;24(9):748-753.

Mill JG, Gomes AP, Carrara AB, Gomes MG, Vassallo DV. Influence of chronic captopril therapy on the mechanical performance of the infarcted rat heart. *Pharmacology Research*. 1994;29(1):77-88.

Mill JG, Novaes MA, Galon M, Nogueira JB, Vassallo DV. Comparison of the contractile performance of the hypertrophied myocardium from spontaneous hypertensive rats and normotensive infarcted rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1998;76(4):387-394.

Miller AA, Megson IL, Gray G. Inducible nitric oxide syntase derives superoxide contributes to hyporeactivity in small mesenteric arteries from a rat of chronic heart failure. *British Journal of Pharmacology*. 2000;131(1): 29-36.

Miller JD, Peotta VA, Chu Y, Weiss RM, Zimmerman K, Brooks RM, Heistad DD. MnSOD protects against COX1-mediated endothelial dysfunction in chronic heart failure. *American Journal of the Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2010;298(5):H1600-7.

Ming Z, Parent R, Lavallée M.  $\beta_2$ -adrenergic dilation of resistance coronary involves KATP channels and nitric oxide in conscious dogs. *Circulation*. 1997;95:1568-1576.

Minotti JR, Christoph I, Oka R, Weiner MW, Wells L, Massie BM. Impaired skeletal muscle function in patients with congestive heart failure. Relationship to systemic exercise performance. *The Journal of Clinical Investigation*. 1991;88(6):2077-2082.

Miura H, Bosnjak JJ, Ning G, Saito T, Miura M, Guterman DD. Role for hydrogen peroxide in flow-induced dilation of human coronary arterioles. *Circulation Research*. 2003;92(2):e31-e40.

Mohri M, Egashira K, Tagawa T, Kuga T, Tagawa H, Harasawa Y, Shimokawa H, Takeshita A. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation in patients with heart failure. *Hypertension*. 1997;30(1pt1):50-56.

Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*. 2006;147 Suppl 1:S193-201.

Mulder P, Devaux B, Fertak LE, Compagnon P, Richard V, Henry JP, Scalbert E, Desché P, Macé B, Thuillez C. Vascular and myocardial protective effects of converting enzyme inhibition in experimental heart failure. *The American Journal of Cardiology*. 1995;76:28E-33E.

Mulder P, Elfertak L, Richard V, Compagnon P, Devaux B, Henry JP, Scalbert E, Desché P, Macé B, Thuillez C. Peripheral artery structure and endothelial function in heart failure: effect of ACE inhibition. *The American Journal of Physiology*. 1996;271:H469-H477.

Mulder P, Compagnon P, Devaux B, Richard V, Henry JP, Elfertak L, Wimart MC, Thibout E, Comoy E, Mace B, Thuillez C. Response of large and small vessels to alpha and beta adrenoceptor stimulation in heart failure: effect of angiotensin converting enzyme inhibition. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 1997;11(3):221-230.

Mulder P, Mellin V, Favre J, Vercauteran M, Remy-Jouet I, Monteil C, Richard V, Renet S, Henry JP, Jeng AY, Webb RL, Thuillez C. Aldosterone synthase inhibition improves cardiovascular function and structure in rats with heart failure: a comparison with spironolactone. *European Heart Journal*. 2008;29(17):2171-2179.

Mulvany MJ, Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiological Reviews*. 1990; 70: 921-961.

Mulvany MJ, Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circulation Research*. 1977;41:19-26. Mulvany MJ, Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiological Reviews*. 1990;70:921-961.

Muramatsu K, Numaguchi K, Egashira K, Takahashi T, Kasuya H, Takeshita A. Effects of N-nitro-L-arginine on coronary artery tone and reactive hyperemia after brief coronary occlusion in conscious dogs. *Coronary Artery Disease.* 1994;5(10):815-820.

Nasa Y, Toyoshima H, Ohaku H, Hashizume Y, Sanbe A, Takeo S. Impairment of cGMP- and cAMP-mediated vasorelaxations in rats with chronic heart failure. *The American Journal of Physiology.* 1996;271(6):H2228-H2237.

Negrao CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart Failure Reviews.* 2008;13(1):51-60.

Okumura Y, Nasa Y, Sanbe A, Toga W, Takeo S. Effects of long-term treatment with trandolapril on augmented vasoconstriction in rats with chronic heart failure. *Journal of Cardiac Failure.* 1996;2(4):301-310.

Opie LH. Control of circulation. In: *Heart Physiology: From Cell to Circulation.* 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 16-41. 2004a.

Opie LH. Acute Coronary Syndromes: Cell Death In: *Heart Physiology: From Cell to Circulation.* 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 485-524. 2004b

Padmaja S, Huie RE. The reaction of nitric oxide with organic peroxy radicals. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1993;195(2):539-544.

Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987;327(6122):524-526.

Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988;333(6174):664-666.

Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation.* 1993;87(5):1468-1474.

Parent R, Paré R, Lavallée M. Contribution of nitric oxide to dilation of resistance coronary vessels in conscious dogs. *American Journal of Physiology.* 1992;262 (1 pt2):H10-H16.

Parent R, Al-Obaidi M, Lavalee. Nitric oxide formation contributes to β3-adrenergic dilation of resistance coronary vessels in conscious dogs. *Circulation Research.* 1993;73:241-251.

Parent R, Hamdad N, Ming Z, Lavallée M. Contrasting effects of blockade of nitric oxide formation on resistance and conductance coronary vessels in conscious dogs. *Cardiovascular Research.* 1996;31:555-567.

- Pereira RB, Sartorio CL, Vassallo DV, Stefanon I. Differences in tail vascular bed reactivity in rats with and without heart failure following myocardial infarction. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005;312(3):1321-1325.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Research*. 1979;44(4):503-512.
- Poelzl G, Frick M, Huegel H, Lackner B, Alber HF, Mair J, Herold M, Schwarzacher S, Pachinger O, Weidinger F. Chronic heart failure is associated with vascular remodeling of the brachial artery. *European Journal of Heart Failure*. 2005;7(1):43-8.
- Prior DL, Jennings GLR, Arnold P, Du XJ, Chin-Dusting JPF. Impaired endothelium-dependent relaxation in large, but not small arteries in rats after coronary ligation. *European Journal of Pharmacology*. 1998;355:167-174.
- Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circulation Research*. 1983;52(3):352-357.
- Rascado RR, Bendhack LM. Activation of  $\alpha_2$ -adrenoceptors is necessary to induce nitric oxide release in isoprenaline-induced relaxation. *Vascular Pharmacology*. 2005;42:63-68.
- Rascado RR. Efeito dos agonistas  $\beta$ -adrenérgicos sobre o relaxamento vascular em aorta de ratos hipertensos renais (2R – 1C). 121f. Tese (doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.
- Rembold CM, Chen X-L. Mechanisms responsible for forskolin-induced relaxation of rat tail artery. *Hypertension*. 1998;31:872-877.
- Rembold CM. Regulation of contraction and relaxation in arterial smooth muscle. *Hypertension*. 1992;20(2):129-137.
- Rubany GM, Vanhoutte PM. Oxygen-derived free radicals, endothelium and responsiveness of vascular smooth muscle. *The American Journal of Physiology*. 1986;250(19):H815-H821.
- Rubin SA, Fishbein MC, Sware HJC. Compensatory hypertrophy in the heart after myocardial infarction in the rat. *Journal of the American College of Cardiology*. 1983;1:1435-1441.
- Santos AC, Alves MJ, Rondon MU, Barreto AC, Middlekauff HR, Negrão CE. Sympathetic activation restrains endothelium-mediated muscle vasodilatation in heart failure patients. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2005;289(2):H593-H599.

Saraiva RM, Minhas KM, Raju SV, Barouch LA, Pitz E, Schuleri KH, Vandegaer K, Li D, Hare JM. Deficiency of neuronal nitric oxide synthase increases mortality and cardiac remodeling after myocardial infarction: role of nitroso-redox equilibrium. *Circulation*. 2005;112(22):3415-3422.

Sartório CL, Pinto VD, Cutini GJS, Vassalo DV, Stefanon I. Effects of inducible nitric oxide syntase inhibition on the rat tail vascular bed reactivity three daysafter myocardial infarction. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2005;45(4):321-326.

Schäfer A, Fraccarollo D, Hildemann SK, Tas P, Ertl G, Bauersachs J. Addition of the selective aldosterone receptor antagonist eplerenone to ACE inhibition in heart failure: effect on endothelial dysfunction. *Cardiovascular Research*. 2003;58(3):655-662.

Schäfer A, Fraccarollo D, Tas PIET, Schmidt I, Ertl G, Bauersachs J. Endothelial dysfunction in congestive heart failure: ACE inhibition vs. angiotensin II antagonism. *The European Journal of Heart Failure*. 2004;6:151-159.

Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *The New England Journal of Medicine*. 1999;341:577-585.

Seddon M, Melikian N, Dworakowski R, Shabeh H, Jiang B, Byrne J, Casadei B, Chowienczyk P, Shah AM. Effects of neuronal nitric oxide synthase on human coronary artery diameter and blood flow in vivo. *Circulation*. 2009;119(20):2656-2662.

Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirculation*. 2005;12(1):33-45.

Shechter M, Matetzky S, Arad M, Feinberg MS, Freimark D. Vascular endothelial function predicts mortality risk in patients with advanced ischaemic chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2009b;11(6):588-593.

Shimokawa H, Matoba T. Hydrogen peroxide as an endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Pharmacological Research*. 2004;49(6):543-549.

Smith CJ, Sun D, Hoegler C, Roth BS, Zhang X, Zhao G, Xu XB, Kobari Y, Pritchard K, Sessa WC Jr, Hintze TH. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circulation Research*. 1996;78:58-64.

Smith TP Jr, Carty JM Jr. Modulation of coronary autoregulatory responses by nitric oxide: evidence for flow-dependent resistance adjustments in conscious dogs. *Circulation Research*. 1993;73:232-240.

Spooner PH, Thai HM, Goldman S, Gaballa MA. Thyroid hormone analog, DITPA, improves endothelial nitric oxide and beta-adrenergic mediated vasorelaxation after myocardial infarction. *Jounal of Cardiovascular Pharmacology*. 2004;44(4):453-459.

Stassen FRM, Fazzi GE, Leenders PJA, Smits JFM, De Mey JGR. Coronary arterial hyperreactivity and mesenteric arterial hyporeactivity after myocardial infarction in the rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1997;29(6):780-788.

Sun D, Kaley G, Koller A. Characteristics and origin of myogenic response in isolated gracilis muscle arterioles. *The American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 1994;266:H1177-H1183.

Sun D, Huang A, Zhao G, Bernstein R, Forfia P, Xu X, Koller A, Kaley G, Hintze TH. Reduced NO-dependent arteriolar dilation during the development of cardiomyopathy. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2000;278(2):H461-H468.

Tare M, Parkington HC, Coleman HA, Neild TO, Dusting GJ. Hyperpolarization and relaxation of arterial smooth muscle caused by nitric oxide derived from the endothelium. *Nature*. 1990;346(6279):69-71.

Teerlink JR, Clozel M, Fischli W, Clozel JP. Temporal evolution of endothelial dysfunction in a rat model of heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 1993;22:615-620.

Teerlink JR, Gray GA, Clozel M, Clozel JP. Increased vascular responsiveness to norepinephrine in rats with heart failure is endothelium dependent. Dissociation of basal and stimulated nitric oxide release. *Circulation*. 1994;89(1):393-401.

Thai H, Guarraia D, Johnson N, Goldman S, Gaballa MA. Valsartan therapy in heart failure after myocardial infarction: the role of endothelial dependent vasorelaxation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2007;50(6):703-707.

Thomas DP, Hudlika O, Brown MD, Deveci D. Alterations in small arterioles precede changes in limb skeletal muscle after myocardial infarction. *The American Journal of Physiology*. 1998;44:H1032-H1039.

Thomas SR, Witting PK, Drummond GR. Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2008;10(10):1713-1765.

Thuillez C, Mulder P, Elfertak L, Blaysat G, Compagnon P, Henry JP, Richard V, Scalbert E, Desche P. Prevention of endothelial dysfunction in small and large arteries in a model of chronic heart failure: Effect of angiotensin converting enzyme inhibition. *The American Journal of Hypertension*. 1995;8:7S-12S.

Toyoshima H, Nasa Y, Kohsaka Y, Isayama Y, Yamaguchi F, Sanbe A, Takeo S. The effect of chronic treatment with trandolapril on cyclic AMP-and cyclic GMP-dependent relaxations in aortic segments of rats with chronic heart failure. *British Journal of Pharmacology*. 1998;123(2):344-352.

Trautner S, Amtorp O, Boesgaard S, Andersen CB, Galbo H, Haunsoe S, Sheykhzade M. Noradrenaline-induced increases in calcium and tension in skeletal muscle conductance and resistance arteries from rats with post-infarction heart failure. *European Journal of Pharmacology*. 2006;537:143-154.

Treasure CB, Vita JA, Cox DA, Fish RD, Gordon JB, Mudge GH, Colucci WS, Sutton MG, Selwyn AP, Alexander RW, et al. Endothelium-dependent dilation of the coronary microvasculature is impaired in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1990;81(3):772-779.

Tsai P, Weaver J, Cao GL, Pou S, Roman LJ, Starkov AA, Rosen GM. L-arginine regulates neuronal nitric oxide synthase production of superoxide and hydrogen peroxide. *Biochemical Pharmacology*. 2005;69(6):971-979.

Tschudi MR, Criscione L, Novosel D, Pfeiffer K, Fischer TF. Antihypertensive therapy augments endothelium-dependent relaxations in coronary arteries of spontaneously hypertensive rats. *Circulation*. 1994;89:2212-2218.

Tun A, Khan IA. Myocardial infarction with normal coronary arteries: the pathologic and clinical perspectives. *Angiology*. 2001;52(5):299-304.

Ueda A, Ohyanagi M, Koida S, Iwasaki T. Enhanced release of endothelium-derived hyperpolarizing factor in small congestive heart failure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2005;32:615-621.

Vanhoutte PM. Endothelium-dependent responses in congestive heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1996;28:2233-2240.

Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiologica (Oxf)*. 2009;196(2):193-222.

Varin R, Mulder P, Richard V, Tamion F, Devaux C, Henry JP, Lallemand F, Lerebours G, Thuillez C. Exercise improves flow-mediated vasodilatation of skeletal muscle arteries in rats with chronic heart failure. Role of nitric oxide, prostanoids, and oxidant stress. *Circulation*. 1999;99(22):2951-2957.

Varin R, Mulder P, Tamion F, Richard V, Henry JP, Lallemand F, Lerebours G, Thuillez C. Improvement of endothelial function by chronic angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure : role of nitric oxide, prostanoids, oxidant stress, and bradykinin. *Circulation*. 2000;102(3):351-6.

Vásquez-Pérez S, Navarro-Cid J, de las Heras N, Cediel E, Sanz-Rosa D, Ruilope LM, Cachofeiro V, Lahera V. Relevance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the effects of hypertension on rat coronary relaxations. *Journal of Hypertension*. 2001;19:539-545.

Wang J, Seyedi N, Xu XB, Wolin MS, Hintze TH. Defective endothelium-mediated control of coronary circulation in conscious dogs after heart failure. *The American Journal of Physiology*. 1994;266(2 Pt 2):H670-H680.

Wang Y, Wang S, Wier WG, Zhang Q, Jiang H, Li Q, Chen S, Tian Z, Li Y, Yu X, Zhao M, Liu J, Yang J, Zhang J, Zang W. Exercise improves the dilatation function of mesenteric arteries in postmyocardial infarction rats via a PI3K/Akt/eNOS pathway-mediated mechanism. *American Journal Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2010;299(6):H2097-H2106.

Weaver J, Porasuphatana S, Tsai P, Pou S, Roman LJ, Rosen GM. A comparative study of neuronal and inducible nitric oxide synthases: generation of nitric oxide, superoxide, and hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005;1726(3):302-308.

Wenceslau CF, Davel AP, Xavier FE, Rossoni LV. Long-term ouabain treatment impairs vascular function in resistance arteries. *Journal of Vascular Research*. 2011;48(4):316-26.

White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet*. 2008; 372(9638):570-84.

Wilson JR, Martin JL, Schwartz D, Ferraro N. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure: role of nutritive flow to skeletal muscle. *Circulation*. 1984;69(6):1079-1087.

Xu B, Li J, Gao L, Ferro A. Nitric oxide-dependent vasodilatation of rabbit femoral artery by  $\beta_2$  adrenergic stimulation or cyclic AMP elevation in vivo. *British Journal of Pharmacology*. 2000;129:969-974.

Xu Y, Henning RH, Lipsic E, Vanbuiten A, Vangilst WH, Buikema H. Acetylcholine stimulated dilatation and stretch induced myogenic constriction in mesenteric artery of rats with chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2007;9:144-151.

Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Kajita T, Shigeto F, Goto M, Ogasawara Y, Kajiya F. Hydrogen peroxide, an endogenous endothelium-derived hyperpolarizing factor, plays an important role in coronary autoregulation in vivo. *Circulation*. 2003;107(7):1040-1045.

Zecchin HG, Priviero FB, Souza CT, Zecchin KG, Prada PO, Carvalheira JB, Velloso LA, Antunes E, Saad MJ. Defective insulin and acetylcholine induction of endothelial cell-nitric oxide synthase through insulin receptor substrate/Akt signaling pathway in aorta of obese rats. *Diabetes*. 2007;56(4):1014-1024.

Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*. 2009;20(4):223-230.