

Milene Tavares Fontes

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TECIDO ADIPOSEO
PERIVASCULAR (PVAT) NA REATIVIDADE VASCULAR
DA AORTA DE RATOS COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA SUBMETIDOS AO TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO E RESISTIDO**

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.

São Paulo
2019

Milene Tavares Fontes

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TECIDO ADIPOSEO
PERIVASCULAR (PVAT) NA REATIVIDADE VASCULAR
DA AORTA DE RATOS COM INSUFICIÊNCIA
CARDÍACA SUBMETIDOS AO TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO E RESISTIDO**

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(a): Profa. Dra. Luciana Venturini Rossoni

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2019

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Fontes, Milene Tavares

Avaliação da influência do tecido adiposo perivascular (PVAT) na reatividade vascular da aorta de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento físico aeróbico e resistido / Milene Tavares Fontes; orientadora Luciana Venturini Rossoni. -- São Paulo, 2019.

134 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Insuficiência cardíaca. 2. Tecido adiposo perivascular. 3. Treinamento físico. 4. Aorta torácica . 5. Aorta abdominal. I. Rossoni, Luciana Venturini, orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato (a): Milene Tavares Fontes.

Título da Tese: Avaliação da influência do tecido adiposo perivascular (PVAT) na reatividade vascular da aorta de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento físico aeróbio e resistido.

Orientador (a): Luciana Venturini Rossoni.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:.....

Nome:.....

Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:.....

Nome:.....

Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:.....

Nome:.....

Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:.....

Nome:.....

Instituição:.....

Presidente: Assinatura:.....

Nome:.....

Instituição:.....



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP Brasil
Telefone (55) (011) 3091.7733 – e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **53** nas fls. **19** do livro **03** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) **Luciana Venturini Rossoni**, Coordenador (a) da Linha de pesquisa "*Avaliação da influência do tecido adiposo perivascular (PVAT) na reatividade vascular da aorta de ratos infartados submetidos ao treinamento físico aeróbico e resistido*" do qual participam o(s) aluno(s) **Milene Tavares Fontes**, Especialista de Laboratório **Gisele Kruger Couto**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela *COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)* em **24.06.2014**, com validade de **4 anos**.

São Paulo, 16 de junho de 2014.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador-CEUA- ICB/USP

Prof. Dra. ANA PAULA LEPIQUE
Secretária- CEUA - ICB/USP

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o número de processo 2014/20303-0.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à Deus, não apenas por estar finalizando este processo, mas por toda a força que me foi dada para conclusão dessa tese.

Aos meus pais, Cosme e Maria Helena, e a minha irmã Dani, o que seria de mim sem vocês? Foram tantas palavras de incentivos dadas ao longo dessa jornada.

Ao Piter, o homem que está ao meu lado há mais de uma década, sempre me incentivando, mesmo sabendo que isso nos manteria longe. Por fim a distância nos fortaleceu.

Às irmãs que a vida me deu, Ana Flávia e Suzi. A vida nos levou à caminhos distantes, mas não houve um só dia, que eu não tenha desejado estar pertinho de vocês.

Às minhas tias, Maria José, Josilene, Elze e Divalmir, e um agradecimento todo especial à Maria do Carmo e Tonho, pela preocupação em sempre saber se estava tudo bem e por todos os desejos que exalam das suas palavras e pensamentos.

Aos amigos mais que especiais que São Paulo me presenteou. Como foi difícil ir embora dessa cidade e mais uma vez ficar longe de pessoas que amo. Toda a dificuldade de estar longe das nossas famílias é preenchida de tanto amor que vocês me davam. Simone, Tainará, Renéé, Vanessa e Tiago, vocês são muito especiais e estarão sempre nas minhas orações e pensamentos.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vascular, Patrícia, Suliana, Caroline, Ricardo, Karilane, Flávia, Thais e Aline. Vocês contribuíram de forma muito expressiva para que os meus dias no laboratório fossem mais felizes.

À Gisele Couto, você talvez não faça ideia do quanto foi importante no início da minha jornada em SP. Obrigada por todos os conselhos, cuidados e quintas felizes.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, por todo o aprendizado na minha graduação e mestrado, me preparando para evoluir cada vez mais.

Ao amigo Tharciano, que sempre foi um grande incentivador. Você é um exemplo que eu sempre quero seguir pela ética, responsabilidade, inteligência e loucura.

À prof. Dr. Eliana Akamine, que nunca mediu esforços para me auxiliar ao longo desse processo, seja com uma dúvida ou com palavras de incentivo.

À minha orientadora prof. Dr. Luciana Rossoni, obrigada pela oportunidade e pelos excessos de cobranças. Não foi nem um pouco fácil, e por muitas vezes, pensei em desistir, mas eu sobrevivi à sua necessidade de querer sempre o melhor e isso me fez chegar tão longe. Espero que eu tenha suprido as suas expectativas.

Aos professores Dr. William T. Festuccia, Dr. Maria Luiza de Moraes Barreto de Chaves, Dr. Ana Paula Davel, Dr. Kátia de Angelis e Dr. Lisete Compagno Michelini pelas colaborações. Esse agradecimento se estende aos seus alunos, Érique de Castro, Thiago Belchior de Oliveira, Nathalia Senge, Caroline Antunes, Jamaira Victorio Guilherme Lemos Shimojo.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Biofísica ICB/USP por todas as contribuições. Em especial, ao Zé Maria, por ser um colaborador indispensável durante o período da pós-graduação.

As agências de fomento a pesquisa pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o número de processo 2014/20303-0.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

(Martin Luther King)

RESUMO

FONTES, Milene Tavares. **Avaliação da influência do tecido adiposo perivascular na reatividade vascular da aorta de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento físico aeróbio e resistido.** 2019. 134f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. O tecido adiposo perivascular (PVAT) libera substâncias dilatadoras e constritoras, sendo que as dilatadoras se sobrepõem, exercendo efeito anticontrátil. Esse efeito está prejudicado na presença de algumas doenças cardiovasculares. Na insuficiência cardíaca (IC) ocorrem danos ao sistema vascular, todavia nenhum estudo avaliou a função do PVAT na IC. A utilização do treinamento físico (TF) tem sido recomendada com terapia não farmacológica eficiente em promover benefícios ao sistema cardiovascular. As recomendações sugerem que o exercício resistido seja adicionado aos programas de TF para pacientes com IC, podendo, assim, o treinamento combinado (TC; aeróbio e resistido) fornecer benefícios adicionais à saúde cardiovascular. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o papel do PVAT na reatividade vascular da aorta torácica dos ratos com IC e, após, avaliar a influência do TC na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com IC. Ratos Wistar foram submetidos à oclusão da artéria coronária descendente ou falso operado (SO). Após 4 semanas, para o estudo sem TC os animais foram mantidos sem intervenção, e para o estudo que envolvia o TC foram divididos em sedentários (SOs e ICs) e treinados (SOt e ICt, esteira e escada, 5 x/sem., 8 sem.). Anéis da aorta torácica e/ou abdominal com (E+) e sem endotélio (E-), na presença (PVAT+) ou na ausência do PVAT (PVAT-), foram montados em miógrafo de arame e curvas concentração-resposta à fenilefrina (FEN, 10^{-9} – 10^{-5} M) foram realizadas. A IC promoveu aumento da contração FEN nos anéis E+/PVAT- da aorta torácica quando comparado aos SO, e o efeito anticontrátil do PVAT foi prejudicado pela IC nos anéis E+/PVAT+ e E-/PVAT+. O prejuízo no efeito anticontrátil do PVAT foi acompanhado por maior atividade da ECA1 e da expressão dos AT1R, AT2R e MASR no PVAT dos animais com IC. O antagonismo dos AT1R, AT2R e MASR promoveram redução da resposta contrátil nos anéis E+/PVAT- nos IC, nos anéis E+/PVAT+ essa redução foi superior apenas para o antagonismo do AT1R e AT2R. A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) na aorta torácica e PVAT dos animais IC foi maior que nos SO, acompanhada por uma menor biodisponibilidade de NO. O TC aumentou a capacidade física nos SOt e ICt. Na aorta torácica o TC reverteu parte do prejuízo da função anticontrátil do PVAT, aumentou a expressão do PRDM-16 e ESPST-1 que estavam reduzidos na IC, além disso, melhorou a biodisponibilidade de NO no PVAT pela maior expressão da eNOS, β 3-AR e AMPk1/2 α , aumentou a concentração de adiponectina e reduziu marcadores pró-inflamatórios. Na aorta abdominal, o efeito anticontrátil do PVAT não estava presente e o TC reverteu a disfunção endotelial dos animais com IC, aumentando a biodisponibilidade de NO e a expressão da eNOS na aorta. Em conclusão, na IC os AT1R e AT2R contribuem tanto para a disfunção endotelial quanto do PVAT, reduzindo a biodisponibilidade de NO e aumentando a produção de ERO. O TC melhorou a função anticontrátil na aorta torácica, por benefícios na via de sinalização β 3-AR/Adiponectina/AMPK/eNOS, modificando o perfil morfológico e inflamatório do PVAT. Já na aorta abdominal, o TC melhorou a função vascular, aumentando a biodisponibilidade de NO.

Palavras-chave: Tecido adiposo perivascular. Insuficiência cardíaca. Treinamento combinado. Sistema renina angiotensina. Endotélio.

ABSTRACT

FONTES, Milene Tavares. **Evaluation of the influence of perivascular adipose tissue on the vascular reactivity of the aorta of rats with heart failure submitted to aerobic and resistance training.** 2019. 134f. Ph. D. Thesis (Human Physiology) Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2019.

Perivascular adipose tissue (PVAT) releases dilating and constricting substances, and the dilators overlap, exerting an anti-contractile effect. This effect is impaired in the presence of some cardiovascular diseases. In heart failure (HF) damage to the vascular system occurs, however, no study has evaluated the function of PVAT in HF. The use of physical training (PT) has been recommended with non-pharmacological therapy effective in promoting cardiovascular system benefits. The recommendations suggest that resistance exercise be added to the PT programs for patients with HF, thus, combined training (CT, aerobic and resisted) may provide additional cardiovascular health benefits. The objective of the present study was to evaluate the role of PVAT in the vascular reactivity of the thoracic aorta of HF rats and, after that, to evaluate the influence of CT in the anti-contractile response of PVAT of the thoracic and abdominal aorta of healthy and HF rats. Wistar rats were submitted to descending coronary artery occlusion or false operated (SO). After 4 weeks, for the study without CT, the animals were kept without intervention, and for the study involving the CT were divided into sedentary (SOs and HF_s) and trained (SO_t and HF_t, treadmill and ladder, 5 x/8 sem.). In the presence (PVAT⁺) or in the absence of the PVAT (PVAT⁻), thoracic and/or abdominal aorta with (E⁺) and without endothelium (E⁻), were mounted on wire myograph and concentration-response curves to phenylephrine, (PHE, 10⁻⁹-10⁻⁵M) were performed. HF promoted an increase in PHE contraction in the E⁺/PVAT⁻ rings of the thoracic aorta when compared to SO, and the anti-contractile effect of PVAT was impaired by HF in the E⁺/PVAT⁺ and E⁻/PVAT⁺ rings. The impairment in the anti-contractile effect of PVAT was accompanied by increased activity of ECA1 and the expression of AT1R, AT2R and MASR in the PVAT of animals with HF. The AT1R, AT2R and MASR antagonism promoted a reduction of the contractile response in the E⁺/PVAT⁻ rings in the HF, in the E⁺/PVAT⁺ rings, this reduction was superior only to the antagonism of AT1R and AT2R. The production of reactive oxygen species (ROS) in the thoracic aorta and PVAT of the HF animals was higher than in the SO, accompanied by a lower NO bioavailability. CT increased physical capacity in SO_t and HF_t. In the thoracic aorta CT reversed part of the impairment of PVAT anti-contractile function, increased the expression of PRDM-16 and ESPST-1 that were reduced in HF, in addition, it improved the bioavailability of NO in PVAT by the greater expression of eNOS, β3-AR and AMPK1/2α, increased the concentration of adiponectin and reduced proinflammatory markers. In the abdominal aorta, the anti-contractile effect of PVAT was not present and CT reversed the endothelial dysfunction of HF animals, increasing NO bioavailability and eNOS expression in the aorta. In conclusion, in HF, AT1R and AT2R contribute to both endothelial and PVAT dysfunction, reducing NO bioavailability and increasing ROS production. CT improved the anti-contractile function in the thoracic aorta due to benefits in the β3-AR/Adiponectin/AMPK/eNOS signaling pathway, modifying the morphological and inflammatory profile of PVAT. Already in the abdominal aorta, the CT improved the vascular function, the CT improved the vascular function, increasing the bioavailability of NO.

Key words: Perivascular adipose tissue. Heart Failure. Combined training. Renin angiotensin system. Endothelium.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Curva concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com endotélio funcional (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-).....	46
Figura 2 - Curva concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem endotélio funcional (E-), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-)	47
Figura 3 - Atividade das enzimas conversora de angiotensina 1 (ECA1) e 2 (ECA2).....	48
Figura 4 - Expressão gênica dos receptores AT1, AT2 e MAS.....	49
Figura 5 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular, na presença e na ausência do antagonista do receptor AT1.....	53
Figura 6 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-), na presença e na ausência do antagonista do receptor AT2.....	54
Figura 7 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-), na presença e na ausência do antagonista do receptor MAS.....	55
Figura 8 - Imagens representativas dos cortes transversais da aorta torácica e PVAT, incubados com dihidroetidina.....	57
Figura 9 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com endotélio (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) na presença e na ausência do inibidor não seletivo da NOS.....	58
Figura 10 - Fração de ejeção, concentração plasmática do BNP, distância atingida no teste de esforço e carga máxima.....	60
Figura 11 - Ganho da distância percorrida na esteira e na carga máxima levantada na escada entre a semana 0 e a 8ª semana de treinamento ou sedentarismo.....	61
Figura 12 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica e abdominal com endotélio (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-).....	67
Figura 13 - Peso do PVAT da aorta torácica e abdominal e expressão gênica da UCP-1 no PVAT da aorta torácica.....	69
Figura 14 - Expressão gênica de marcadores de tecido adiposos marrom (PRDM-16), bege (ESPSTI-1) e branco (TCF-21).....	70
Figura 15 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica.....	72
Figura 16 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica em anéis com ou sem o inibidor não seletivo da síntese de óxido nítrico (L-NAME).....	74
Figura 17 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica em anéis com ou sem o inibidor não seletivo da síntese de óxido nítrico (L-NAME).....	75
Figura 18 - Expressão proteica da eNOS na aorta torácica, e da eNOS e da AMPK α 1/2 no PVAT.....	77

Figura 19 - Expressão gênica do receptor β_3 adrenérgico e da eNOS no PVAT da aorta torácica.....	78
Figura 20 - Concentração de adiponectina no PVAT da aorta torácica.....	78
Figura 21 - Expressão gênica da interleucina-6 (IL-6), do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e da interleucina-10 (IL-10) no PVAT da aorta torácica.....	79
Figura 22 - Expressão gênica de marcadores de tecido adiposo marrom (PRDM-16), bege (ESPSTI-1) e branco (TCF-21) detectados no PVAT da aorta abdominal.....	80
Figura 23 – Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta abdominal.....	81
Figura 24 - Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta abdominal, na presença e na ausência do inibidor não seletivo da NOS.....	83
Figura 25 - Expressão proteica da eNOS na aorta abdominal.....	85
Figura 26 - Expressão gênica da interleucina-6 (IL-6), do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e da interleucina-10 (IL-10) no PVAT da aorta abdominal.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sequências dos primers utilizados.....	41
Tabela 2 - Parâmetros hemodinâmicos, subprojeto 1.....	45
Tabela 3 - Parâmetros morfométricos, subprojeto 1.....	46
Tabela 4 - Valores de resposta máxima nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença dos antagonistas dos receptores AT1, AT2 e MAS	56
Tabela 5 – Valores de pD2 nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença dos antagonistas dos receptores AT1, AT2 e MAS.....	56
Tabela 6 – Valores de pD2 nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença do inibidor não seletivo da NOS.....	59
Tabela 7 – Valores de pD2 nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença do inibidor não seletivo da NOS.....	62
Tabela 8 - Parâmetros hemodinâmicos, subprojeto 2.....	63
Tabela 9 - Parâmetros morfométricos, subprojeto 2.....	66
Tabela 10 - Contração ao KCl.....	68
Tabela 11 - Valores de resposta máxima e pD2 obtidos nos anéis da aorta torácica e abdominal.....	76
Tabela 12 - Valores de resposta máxima e pD2 obtidos nos anéis da aorta torácica, na ausência e na presença do inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANG I: Angiotensina
ANG II: Angiotensina II
ANG 1-7: Angiotensina 1-7
AT1R: Receptor de angiotensina tipo 1
AT2R: Receptor de angiotensina tipo 2
AMPk1/2 α : Proteína quinase ativada por AMP subunidade α 1/2
 β 3-AR: Receptor adrenérgico β 3
BH4: Tetrahydrobiopterina
BNP: Peptídeo natriurético cerebral
DHE: Dihidroetídio
dP/dt- : Derivada de pressão em função do tempo negativa
dP/dt+ : Derivada de pressão em função do tempo positiva
eNOS: Óxido nítrico sintase endotelial
E+ : Presença do endotélio
E- : Ausência do endotélio
ECA 1: Enzima conversora de angiotensina 1
ECA 2: Enzima conversora de angiotensina 2
eNOS: Sintase de óxido nítrico endotelial
EPSTI-1: Interação estromal epitelial 1
ERO: Espécies reativas de oxigênio
FC: Frequência cardíaca
FE: Fração de ejeção
FEN: Fenilefrina
FEVE: Fração de ejeção do VE
GAPDH: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina
H₂S: Sulfeto de hidrogênio
HPRT1: Hipoxantina fosforibosiltransferase 1
IC: Insuficiência cardíaca
ICs: Insuficiente cardíaco sedentário
ICt: Insuficiente cardíaco treinado
IL-6: Interleucina 6
IL-10: Interleucina 10
IM: Infarto do miocárdio
KCl: Cloreto de potássio
L-NAME: Éster metílico de N(ω)-nitro-L-arginina
MCP1: Proteína de quimioatração de monócitos
NO: Óxido nítrico
PAD: Pressão arterial diastólica
PAS: Pressão arterial sistólica
pD2: -log da EC50
PDfVE: Pressão diastólica final do VE
PSVE: Pressão sistólica do VE
PVAT: Tecido adiposo perivascular
Rmax: Resposta máxima
SO: SHAM (falso operados)
SOS: Falso operado sedentário
SOT: Falso operado treinado

SRA: Sistema renina-angiotensin
T: Tíbia
TA: Treinamento aeróbio
TBX1: Fator de transcrição T-box 1
TC: Treinamento combinado
TCF21: Fator de transcrição 21
TMEM26: Proteína transmembranar 26
TNF- α : Fator de necrose tumoral α
TR: Treinamento resistido
VD: Ventrículo direito
VE: Ventrículo esquerdo
ViVED: Volume interno do VE ao final da diástole
ViVEs: Volume interno do VE ao final da sístole
VO_{2max}: Volume de oxigênio máximo
UCP-1: proteína desacopladora 1
ZIC1: Proteína dedo de zinco 1

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Tecido adiposo perivascular	18
1.2. Sistema Renina Angiotensina.....	22
1.3. Insuficiência cardíaca (IC).....	25
1.4. Exercício físico	27
2. OBJETIVO.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1. Animais experimentais (subprojeto 1 e 2).....	33
3.2. Obtenção dos modelos experimentais (subprojeto 1 e 2).....	33
3.3. Avaliação da função ventricular (subprojeto 2)	33
3.3.1. Exame ecocardiográfico transtorácico	33
3.3.2. Quantificação das concentrações do Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP)...	34
3.4. Protocolo de treinamento (subprojeto 2)	35
3.4.1. Protocolo de treinamento aeróbico (TA)	35
3.4.2. Protocolo de exercício resistido	36
3.5. Medidas hemodinâmicas (subprojeto 1 e 2).....	36
3.6. Avaliação da hipertrofia cardíaca, da área de infarto e da congestão pulmonar (subprojeto 1 e 2).....	37
3.7. Metodologia para avaliação da reatividade vascular em artéria aorta (subprojeto 1 e 2) 37	
3.7.1. Protocolo experimental	38
3.7.1.1. Subprojeto 1	39
3.7.1.2. Subprojeto 2	39
3.8. Medida das espécies reativas derivadas do oxigênio (ERO) (subprojeto 1)	39
3.9. Ensaio da Atividade da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) (subprojeto 1) 40	
3.9.1. Atividade da ECA1	40
3.9.2. Atividade da ECA2	41
3.9.3. Reação de transcrição reversa (RT-PCR) (subprojeto 1 e 2).....	41
3.10. Quantificação da adiponectina do PVAT (subprojeto 2).....	43
3.11. Western Blotting (subprojeto 2)	
3.12. Análises estatísticas (subprojeto 1 e 2)	45
4. RESULTADOS	46

4.1. Avaliação do sistema renina angiotensina no prejuízo do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica dos ratos com IC	46
4.1.1. Parâmetros hemodinâmicos e morfométricos	46
4.1.2. Avaliação da reatividade vascular e do efeito anticontrátil do PVAT	47
4.1.3. Avaliação da atividade e expressão gênica dos componentes do SRA na aorta torácica e no PVAT de animais SO e IC	49
4.1.4. Avaliação da influência do SRA no efeito do endotélio e do PVAT na resposta contrátil induzida pela fenilefrina na aorta torácica de animais SO e IC	50
4.1.5. Avaliação das EROs na aorta torácica e no PVAT dos animais SO e IC	57
4.1.6. Avaliação da modulação nitrérgica mediada pelo endotélio e pelo PVAT na resposta contrátil induzida pela fenilefrina na aorta torácica de animais SO e IC	57
4.2. Avaliação dos efeitos do treinamento físico combinado (aeróbico e resistido) sobre a disfunção vascular e do PVAT, em aorta torácica e abdominal, dos animais com IC. 60	
4.2.1. Caracterização do protocolo experimental e efetividade do treinamento físico combinado.	60
4.2.2. Parâmetros hemodinâmicos e morfométricos	61
4.2.3. Avaliação da reatividade vascular e do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado	64
4.2.4. Avaliação do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado.....	70
4.2.5. Avaliação da função vascular da aorta abdominal de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado	80
5. DISCUSSÃO.....	87
5.1. Avaliação do sistema renina angiotensina no prejuízo do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica dos ratos com IC	87
5.2. Avaliação da influência do treinamento combinado (aeróbico e resistido) na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com insuficiência cardíaca	95
6. CONCLUSÃO	107
6.1. Avaliação do papel do PVAT na reatividade vascular da aorta torácica dos ratos com insuficiência cardíaca.....	107
6.2. Avaliar a influência do treinamento combinado (aeróbico e resistido) na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com insuficiência cardíaca.	107
REFERÊNCIAS	108

INTRODUÇÃO

1.1. Tecido adiposo perivascular

O tecido adiposo desempenha um papel de extrema relevância para o funcionamento do corpo. Anteriormente, acreditava-se que ele estaria envolvido apenas na captação, armazenamento e liberação dos lipídios (OTTAVIANI; MALAGOLI; FRANCESCHI, 2011; ZHANG et al., 1994). A descoberta da capacidade do tecido adiposo de liberar um hormônio (leptina) fez com que a comunidade científica se voltasse para ele como um órgão endócrino (ZHANG et al., 1994). A partir de então, foi comprovada a sua importância na regulação das funções neuroendócrina, autonômica e imunológica (AHIMA; FLIER, 2000).

Esse tecido é formado de uma variedade de tipos celulares, incluindo células endoteliais, células sanguíneas, fibroblastos, pericitos, pré-adipócitos, macrófagos e outras células imunes, sendo o adipócito maduro o seu principal componente (GÉLOËN, ROY, BUKOWIECKI, 1989). Além disso, esse tecido pode ser dividido em tecido adiposo branco e marrom. No tecido adiposo branco os adipócitos apresentam uma gotícula lipídica unilocular, atinge até 100µm, poucas mitocôndrias, uma baixa taxa oxidativa e é responsável principalmente pelo armazenamento de energia (SAELY, GEIGER, DREXEL et al., 2012; BERRY et al., 2013). Por outro lado, o tecido adiposo marrom apresenta células menores, que atingem em média 60µm de diâmetro, é altamente vascularizado, é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal (BERRY et al., 2013; SAELY, GEIGER, DREXEL et al., 2012). Apesar dessas características distintas, diferentes depósitos adiposos têm uma morfologia e textura específica e distinta, mesmo dentro de um mesmo tipo de tecido adiposo (exemplo: subcutâneo e epididimal) (BERRY et al., 2013).

Até 1991, para a realização dos experimentos de reatividade vascular, o tecido adiposo, que revestia externamente os vasos sanguíneos, era removido (SOLTIS; CASSIS, 1991). Acreditava-se que a manutenção desse tecido nesse experimento pudesse atrapalhar, já que ele era visto apenas como um suporte mecânico aos vasos sanguíneos (SOLTIS; CASSIS, 1991).

Com os experimentos realizados por Soltis e Cassis (1991), foi demonstrado, pela primeira vez, que o tecido adiposo perivascular (PVAT) atuava modificando a

resposta contrátil da aorta de ratos Sprague-Dawley, sugerindo, assim, um papel fisiológico do PVAT no controle do tônus vascular. Esse estudo ficou esquecido e apenas mais de uma década depois Löhn e colaboradores (2002) reavaliaram o efeito do PVAT. Esses autores confirmaram a presença do efeito anticontrátil do PVAT em anéis de aorta torácica de ratos Sprague-Dawley.

Esse segundo estudo adicionou informações de grande relevância para a investigação do efeito anticontrátil do PVAT. Dentre elas, podemos citar: a) esse efeito não era provocado por uma barreira mecânica criada pelo PVAT, e sim pela liberação de fatores vasoativos que se difundem até o músculo liso vascular; b) ocorre de forma independente do agonista contrátil utilizado, visto que a redução da resposta contrátil ocorreu após o estímulo com serotonina, angiotensina II e fenilefrina e c) esse efeito ocorre de maneira independente das terminações nervosas perivasculares (LÖHN et al., 2002).

A partir de então, diversos estudos confirmaram a presença do efeito anticontrátil do PVAT em diferentes vasos sanguíneos e espécies, tais como: na aorta torácica de ratos (ARAUJO et al., 2018; DeVALLANCE et al., 2018; VICTORIO et al., 2016a; VICTORIO et al., 2016b; ARAUJO et al., 2015; BELTOWSKI et al., 2015; SUN et al., 2013; LU et al., 2011a; LEE et al., 2009; ZENG et al., 2009 ; GAO et al., 2007; DUBROVSKA et al., 2004), artéria mesentérica de resistência de ratos (BUSSEY et al., 2018; BUSSEY et al., 2016; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; ROSEI et al., 2015; VERLOHREN et al., 2004; GÁLVEZ et al., 2006), artéria mesentérica de resistência de camundongo (SAXTON et al., 2018; AYALA-LOPEZ; THOMPSON; WATTS, 2017; MARCHESI et al., 2009), artéria torácica interna humana (MALINOWSKI et al., 2008; GAO et al., 2005), artéria coronária circunflexa de porco (REIFENBERGER et al., 2007), artéria da gordura glútea subcutânea de humanos (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2013; GREENSTEIN et al., 2009), aorta de camundongo (XIA et al., 2016; BOYDENS; PAUWELS; VAN DE VOORDE et al., 2015; MAENHAUT et al., 2010), artéria mesentérica superior de camundongo (GIL-ORTEGA et al., 2010) e veia cava de ratos (LU et al., 2011b).

É importante salientar que o PVAT não está presente em todos os vasos sanguíneos do corpo, de forma que as artérias cerebrais (artéria cerebral média, basilar e círculo de Willis) não apresentam PVAT visível em seu entorno (GAO, 2007). Já a aorta abdominal é revestida de PVAT, todavia o efeito anticontrátil desse tecido não foi observado nessa artéria (VICTORIO et al., 2016b).

Apesar desse efeito anticontrátil já ter sido descrito em diferentes leitos vasculares, é sabido que as vias de sinalização envolvidas nessas respostas são distintas. Essas diferenças podem ser promovidas pelo tipo de tecido adiposo que reveste o vaso sanguíneo, a vascularização e a inervação perivascular, ajudando a explicar as variações locais nas características funcionais do PVAT (PADILLA et al., 2013; SZASZ et al., 2012; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008).

As características presentes no PVAT são distintas das observadas nos diferentes depósitos de gordura do corpo. Estudos têm demonstrado que o tamanho do adipócito, a capacidade de diferenciação, a expressão de componentes inflamatórios e do sistema renina angiotensina são distintos entre os depósitos de gordura corporal, assim como entre os diferentes PVATs que circundam diferentes artérias (PADILLA et al., 2013; CHATTERJEE et al., 2009).

A principal característica observada inicialmente foi o tipo de tecido adiposo que reveste esses vasos sanguíneos. Alguns PVATs apresentavam características histológicas semelhantes ao tecido adiposo marrom (PVAT da aorta torácica) e outros ao tecido adiposo branco (PVAT da artéria mesentérica e da aorta abdominal) (PADILLA et al., 2013; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008). Apesar dessa semelhança, é interessante enfatizar, como já dito acima, que esses tecidos apresentam características específicas.

O PVAT marrom, que circunda a aorta torácica, é composto principalmente por adipócitos multiloculares (marrom) que expressam a proteína termogênica de desacoplamento 1 (UCP1) e contêm algumas células uniloculares (PADILLA et al., 2013; WATTS et al., 2011). Por outro lado, os adipócitos do PVAT que circunda as artérias do leito mesentérico são, na sua maioria, uniloculares (brancos) com algumas áreas de adipócitos marrom, possivelmente semelhantes a adipócitos recrutáveis (bege) (WATTS et al. 2011).

Quando esses PVATs foram avaliados de forma mais específica, descobriu-se que, apesar de o PVAT da aorta torácica apresentar adipócitos com fenótipo predominante marrom e a presença da proteína UCP-1, não expressava o marcador de células progenitoras do tecido adiposo marrom, a proteína ZIC-1 (essencial para o desenvolvimento precoce do músculo esquelético e do tecido adiposo marrom em mamíferos). Isso indica que o PVAT da aorta torácica e a gordura marrom interescapular não possuem a mesma origem embrionária (CONTRERAS et al., 2016). Já o PVAT do leito mesentérico, além de apresentar semelhanças histológicas com o depósito de gordura gonadal, exibiu semelhante expressão do gene Tcf21 (marcador para tecidos adiposos

brancos, abundantemente expresso em células tronco adiposas), além dos genes *Tbx1* e *Tmem26* relacionados ao adipócito bege, demonstrando assim que ambos os depósitos de gordura branca (gonadal e perimesentérico) possuem a mesma origem de desenvolvimento (CONTRERAS et al., 2016).

A partir dessas informações, deve-se ter cuidado ao transpor os conhecimentos adquiridos sobre os diferentes depósitos de gordura do corpo, de forma que conhecimentos adquiridos em um determinado depósito adiposo não podem ser generalizados para demais depósitos - em especial os perivasculares.

Possivelmente, todas essas diferenças descritas até aqui estejam relacionadas aos diferentes mecanismos envolvidos no efeito anticontrátil do PVAT. Dentre os fatores liberados pelo PVAT que apresentam a capacidade de amortizar a resposta contrátil podemos citar: óxido nítrico (BUSSEY et al., 2018; VICTÓRIO et al., 2016; XIA et al., 2016; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; GIL-ORTEGA et al., 2010), adiponectina (GREENSTEIN et al., 2009; FÉSÜS et al., 2007), leptina (ABU et al., 2017; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012), angiotensina 1-7 (LEE et al., 2011a ; LEE et al., 2009), sulfeto de hidrogênio (H_2S ; BELTOWSKI et al., 2015; KÖHN et al., 2012; SCHLEIFENBAUM et al., 2010; FANG et al., 2009), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 ; GONZAGA et al., 2018; COSTA et al., 2016; ; GAO et al., 2007), palmitato de metila (LEE et al., 2011b) e prostanóides (MENDIZÁBAL et al., 2013; OZEN et al., 2013).

O efeito anticontrátil do PVAT, promovido pelos fatores acima citados, pode ser dependente das concentrações de cálcio extracelular, dos canais para potássio sensíveis a Ca^{2+} , sensíveis à voltagem e ao ATP e ainda dos receptores β_3 adrenérgicos (BUSSEY et al., 2018; GAO et al., 2005; DUBROVSKA et al., 2004; LÖHN et al., 2002). Além disso, pode ser de maneira independente e/ou dependente do endotélio (LEE et al., 2009; GAO et al., 2007; GAO et al., 2005).

A literatura tem demonstrado que na presença de algumas doenças o PVAT encontra-se disfuncional, passando a liberar fatores que promovem aumento da resposta contrátil, aumento do estado pró-inflamação e promovem o estresse oxidativo, contribuindo para a disfunção vascular. Essas alterações já foram observadas na obesidade, na hipertensão arterial e na resistência à insulina (BUSSEY et al., 2016; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; LU et al., 2011; RITTIG et al., 2008; GÁLVEZ et al., 2006). Todavia, até o momento não se sabe como se encontra o PVAT na insuficiência cardíaca (IC).

A disfunção endotelial é um importante fator para o prejuízo da perfusão coronariana e sistêmica, assim como para a redução da capacidade física em pacientes com IC (BAUERSACHS; WIDDER et al., 2008). Alterações no PVAT podem também vir a promover prejuízos na função vascular (SCHINZARI; TESAURO; CARDILLO, 2017). Desta forma, é importante entender as alterações da função do PVAT, pois elas podem contribuir para o aumento das complicações vasculares observadas na IC.

O nível de contração do músculo liso vascular refere-se ao grau de contração de um vaso em relação ao seu estado máximo de dilatação. Em condição basal, os vasos sanguíneos exibem algum grau de contração (OWENS; KUMAR; WAMHOFF, 2004). O quanto os vasos encontram-se contraídos é determinado por influências vasoconstritoras e vasodilatadoras, as quais podem ser os fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os mecanismos extrínsecos podemos citar: sistema nervoso e hormonal, e dentre os mecanismos intrínsecos podemos citar: o mecanismo miogênico, os fatores liberados pelo endotélio, os metabólicos e hormônios locais e, mais recentemente, o tecido adiposo perivascular tem sido apontado com capaz de liberar substâncias vasoativas e modificar o tônus vascular (JONES et al., 1995). Esses fatores são de importância fundamental para a manutenção do tônus vascular e regulação do fluxo sanguíneo para órgãos e tecidos (ZABORSKA; WAREING; AUSTIN, 2017; WESTCOTT; SEGAL, 2013).

1.2. Sistema Renina Angiotensina

Desde a descoberta da renina em 1898, diversos novos componentes têm sido investigados e adicionados a esse complexo sistema. O sistema renina angiotensina (SRA) clássico consistia na circulação de renina, atuando no angiotensinogênio, proveniente do fígado, para produzir angiotensina I (ANG I), que é convertida em angiotensina II (ANG II) pela enzima conversora de angiotensina 1 (ECA1). Essa ANG II circulante ativa os receptores de angiotensina 1 e 2 (AT1R e AT2R) e, assim, promover os seus efeitos (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008; TIGERSTEDT; BERGMAN, 1898).

Atualmente, sabe-se que o SRA apresenta complexidade e diversidade de funções vasculares, que ocorrem devido à grande variedade de peptídeos e os eixos que esses formam. Cinco eixos foram descritos até o momento: o eixo clássico, angiotensinogênio/renina/ECA1/ANG II/AT1R, e os eixos ANG II/Aminopeptidase

A/ANG III/AT2R/NO/GMPc, ANG I/ANG II/ACE2/ANG (1-7)/receptor MAS, prorenina/renina/receptor de prorenina (PRR)/MAP quinases ERK1/2/V-ATPase e ANG III/ Aminopeptidase A/ANG IV/aminopeptidase regulada pela insulina/AT4R (LI et al., 2017; SANTOS et al., 2018).

A síntese de ANG II pode ser circulatória, tecidual ou ainda apresentar componentes do SRA dentro da célula (intracelular) (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008). Assim como o SRA circulante, o sistema local já foi bem caracterizado, comprovando a presença de componentes do SRA em diversos órgãos. O SRA local e circulante podem se complementar ou funcionar de forma independente (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008; PAUL et al., 2006). O tecido adiposo, por exemplo, contém todos os componentes do SRA, podendo, assim, participar da regulação sistêmica da pressão arterial (ENGELI et al., 2003). Adicionalmente, a literatura tem demonstrado a existência do SRA intracelular. Estudos demonstraram que miócitos cardíacos, fibroblastos e células musculares lisas vasculares sintetizam a ANG II intracelularmente (KUMAR; SINGH; BAKER, 2008; BAKER et al., 2004).

O SRA é um dos mais importantes mecanismos hormonais para o controle da pressão arterial e do equilíbrio hidroeletrólítico (MUÑOZ-DURANGO et al., 2016). Ele é de extrema importância para a função cardiovascular. Em condições fisiológicas, a ANG II tem papel importante no controle da pressão arterial por meio de seus efeitos sobre o rim para conservar o sódio, estimular a liberação de aldosterona, ações na musculatura lisa mediando a vasoconstrição e ativação simpática no sistema nervoso central, todas as ações que mantêm a pressão arterial (CLARKE et al., 2013; QUINN; WILLIAM, 1988). Todavia, a ativação excessiva do SRA tem sido reconhecida como elemento de importância na progressão de lesões de órgãos alvo, como hipertrofia ventricular esquerda, hipertrofia vascular, remodelamento ventricular pós-infarto do miocárdio e alterações renais (CLARKE et al., 2013; WERNER et al., 2008).

O endotélio é um órgão autócrino e parácrino dinâmico que regula as atividades anti-inflamatórias, mitogênicas e contráteis da parede do vaso, bem como o processo hemostático no lúmen do vaso (VAN HINSBERGH, 2012; FLAMMER.; LÜSCHER, 2010; CAI; HARRISON, 2000; FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). O endotélio também é uma importante fonte de componentes do SRA, já que a ECA 1 é expressa na membrana dessas células. Assim, a ANG II, formada a partir da ação da ECA 1 sobre a ANG I, pode ativar os receptores tanto endoteliais quanto nas células musculares lisas. Entretanto, quando há aumento nas concentrações de ANG II, o endotélio torna-se

disfuncional e ocorre aumento na migração e proliferação celular (LIU et al, 1997). Além disso, um endotélio disfuncional, caracterizado por diminuição da síntese de NO e/ou sua inativação pelas espécies reativas de oxigênio (ERO), facilita a inflamação, vasoconstrição, bem como um estado pró-trombótico no lúmen do vaso (VAN HINSBERGH, 2012; FLAMMER.; LÜSCHER, 2010; CAI; HARRISON, 2000).

Dessa forma, contrabalanceando os efeitos do NO liberado pelo endotélio, a ANG II via AT1R exerce efeitos vasoconstritores, trombóticos, inflamatórios e fibróticos (YAN et al., 2003; FERNÁNDEZ-ALFONSO; GONZÁLEZ, 1999; DUBEY et al, 1995). O equilíbrio entre ANG II e NO parece ser crucial para manter a homeostase do sistema cardiovascular, particularmente para regulação do tônus vascular e modulação de processos inflamatórios e relacionados ao crescimento. Em contrapartida, o desequilíbrio de ANG II e NO está relacionado ao surgimento e progressão de diversas doenças cardiovasculares (YAN et al., 2003).

No adipócito, a ANG II é responsável por regular o crescimento e a diferenciação, o metabolismo lipídico e a expressão e liberação de adipocinas, para promover o estresse oxidativo (CASSIS et al., 2008; ENGELI et al., 2003). Adicionalmente a isso, Lu e colaboradores (2007) demonstram a importância do SRA angiotensina local para as concentrações da ANG II circulante. O tecido adiposo produz aproximadamente 68% da quantidade de angiotensinogênio do fígado, e essa grande produção é controlada por modificações sistêmicas nas concentrações de ANG II e pela ativação do AT1R ou AT2R, diferentemente do que ocorre no fígado (CASSIS et al., 2008; LU et al., 2007; CAMPBELL; HABENER, 1987). No tecido adiposo, o aumento da ANG II, ligando-se ao AT1R, aumenta a liberação de angiotensinogênio circulante, já a ativação do AT2R exerce o efeito contrário, sendo assim, ANG II/AT1R no tecido adiposo é responsável por um feedback positivo, de forma que em condições fisiológicas o AT2R é responsável por contrabalancear essas respostas (CASSIS et al., 2008; LU et al., 2007; CAMPBELL; HABENER, 1987). Esse mecanismo desempenha um papel importante na patogênese das doenças cardiovasculares que envolvem o SRA (LU et al., 2007).

Adicionalmente à presença de componentes do SRA local no tecido adiposo (visceral, subcutâneo e células isoladas do tecido adiposo mamário) de humanos, a presença desses componentes também foi observada no PVAT branco (que reveste a artéria mesentérica) e marrom (que reveste a aorta torácica) de ratos, onde foi notada diferenças entre a expressão dos componentes do SRA nos diferentes PVATs,

demonstrando que o SRA do PVAT exerça papéis diferentes dependendo do tipo de tecido adiposo que reveste o vaso (GÁLVEZ-PRIETO et al, 2008; ENGELI et al., 1999).

Em suma, os adipócitos, tanto brancos quanto marrons, produzem e secretam quase que todos os componentes do SRA, mas existem diferenças nas quantidades a depender do tipo e da localização do tecido adiposo (GALVEZ-PRIETO et al., 2008). Desse modo, o adipócito pode ser uma importante fonte de componentes do SRA, tanto para a circulação sistêmica, quanto para os tecidos adjacentes, contribuindo para o estresse oxidativo e inflamação local e vascular (CASSIS et al., 2008; LU et al., 2007). Todavia, estudos que avaliem esse sistema nos diferentes depósitos de PVATs são escassos. Entender o SRA do PVAT é importante e, além da informação de que a sua localização seja muito próxima aos vasos sanguíneos, a literatura tem demonstrado que esse tecido possui especificidades distintas quando comparada aos demais territórios de tecido adiposo do corpo.

1.3. Insuficiência cardíaca (IC)

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte em todo o mundo. Em 2013, das 54 milhões de mortes no mundo 17,3 milhões foram decorrentes de doenças cardiovasculares (BENJAMIN et al, 2017; MOZAFFARIAN et al., 2016). Nos EUA, apenas 54% dos pacientes com IC permanecem vivos após 5 anos do diagnóstico. Além disso, existe uma projeção de aumento na prevalência dessa síndrome para 46% de 2012 até 2030 (HEIDENREICH et al, 2013).

No Brasil, foi publicado em 2015 o 1º Registro Brasileiro de IC (BREATHE - *Brazilian Registry of Acute Heart Failure*), no qual foram avaliados 1263 pacientes hospitalizados com IC de diferentes regiões do país. Nesse estudo, os autores observaram baixa adesão ao tratamento medicamentoso e não utilização do tratamento adequado, segundo as normas das diretrizes atuais para o tratamento da IC, o que promoveu aumento na taxa de mortalidade, que foi de aproximadamente 40% dos pacientes acompanhados (ALBUQUERQUE et al, 2015).

A IC é uma síndrome caracterizada por sintomas típicos, como dispnéia, edema de membros inferiores, turgência jugular e fadiga aos pequenos e/ ou grandes esforços. Esses sintomas podem ser acompanhados de sinais, como o aumento da pressão venosa, da crepitação pulmonar e do edema periférico, causados por alterações estruturais e funcionais do coração, resultando em redução do débito cardíaco e aumento das

pressões intracardíacas, tanto em repouso quanto durante uma situação de estresse (YANCY et al, 2017; PONIKOWSKI et al, 2016; BOCCHI et al, 2009;).

Na IC, a redução da perfusão miocárdica e, conseqüentemente, a diminuição da função ventricular é, em parte, uma consequência da redução da capacidade vasodilatadora dependente do endotélio das artérias coronárias (BAUERSACHS; WIDDER, 2008). Dados do nosso laboratório evidenciaram a existência de uma forte correlação negativa entre a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo e a vasodilatação dependente do endotélio, ou seja, a função endotelial estava intimamente relacionada à função cardíaca (COUTO et al, 2015). Adicionalmente, a diminuição da vasodilatação periférica induz maior resistência vascular sistêmica, a qual, juntamente com a rigidez das artérias de condutância, leva a um aumento da pós-carga (LITTLE; LITTLE et al., 1982). A elevação da pré e pós-cargas aumenta o trabalho cardíaco e agrava os sintomas da IC (BAUERSACHS; WIDDER, 2008).

Estudos em humanos e em modelos experimentais de IC têm reportado disfunção endotelial e, frequentemente, essa é caracterizada pela redução da biodisponibilidade do NO em decorrência do estresse oxidativo (COUTO et al., 2015; ; LI et al, 2012; WANG et al, 2010; BAUERSACHS et al, 1999; GABALLA et al, 1995). Apesar desses resultados, a presença de disfunção endotelial na aorta de animais com IC pós- infarto do miocárdio (IM) ainda não é um consenso na literatura. Da Cunha e colaboradores (2004) encontraram aumento do relaxamento dependente do endotélio em anéis da aorta torácica de animais com IC, 4 semanas pós-IM. Segundo esses autores, o provável mecanismo envolvido nessa resposta seria o aumento na atividade da isoforma endotelial da sintase de óxido nítrico (eNOS). Na mesma direção, dados ainda não publicados do nosso laboratório encontraram aumento do relaxamento dependente do endotélio na aorta torácica de ratos com IC, 4 semanas pós-IM e, por outro lado, uma disfunção endotelial na veia cava inferior desses animais (PERAZZA et al, 2013). Provavelmente, essa diversidade de relatos ocorra, pois, como descrito por Teerlink e colaboradores (1993), a disfunção endotelial parece ser um processo progressivo e dependente do tempo, apresentando menor papel em estágios iniciais da IC. Além disso, a presença de disfunção endotelial na IC também pode ser dependente do leito arterial avaliado (STASSEN et al, 1997), assim como do grau da severidade da disfunção cardíaca (COUTO et al, 2015; PEREIRA et al, 2005). Sendo assim, mais estudos são necessários para melhor compreender os mecanismos vasculares envolvidos nos ajustes da IC pós-IM.

No modelo de IC pós-IM foi observado aumento nas concentrações plasmáticas de ANG II uma semana após a cirurgia de indução do IM, e esse aumento permaneceu após cinco semanas, evidenciando, assim, a ativação do SRA nesse modelo (STASSEN et al, 1997). A utilização de fármacos, como inibidores da ECA 1 e de antagonistas AT1R, reduz a hipertrofia cardíaca, a resistência vascular coronariana e o desenvolvimento da fibrose miocárdica (MILL et al., 1994; SCHIEFFER et al, 1994; PFEFFER et al., 1985; PFEFFER, PFEFFER, BRAUNWALD, 1985). Estudos epidemiológicos relatam que pelo menos 25% dos pacientes que sofrem IM apresentam sinais e sintomas de IC e, dessa forma, associações como *American College of Cardiology* e *American Heart Association* recomendam a utilização desses fármacos após o IM, a fim de prevenir sua evolução para a IC (YANCY et al, 2017; MINICUCCI et al, 2011).

Como mencionado anteriormente, a presença de diversos componentes do SRA já foi observada em diferentes depósitos de PVAT e, sendo esse sistema importante para o surgimento e evolução da IC, é relevante entender se o PVAT está disfuncional na IC e qual o papel do SRA nesse dano (GÁLVEZ-PRIETO et al, 2008).

Assim, torna-se importante esclarecer se existe uma relação entre os diferentes tipos de tecido adiposo que revestem o sistema vascular, o SRA e a IC, assim como as vias de sinalização envolvidas, a fim de encontrar manobras e tratamentos que atuem tanto na prevenção como no tratamento desta doença. Além da utilização de terapias medicamentosas, a modificação no estilo de vida, tal como a prática de exercícios físicos regulares, são fundamentais para a reabilitação de pacientes com IC (HAYKOWSKY et al., 2016; POOLE et al., 2012; BENETTI et al, 2010; WANG et al, 2010). Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado a eficiência do exercício aeróbio em promover melhorias na função vascular em diversas enfermidades, incluindo a IC (COUTO et al, 2018; BECK et al, 2013; LIU et al, 2013).

1.4. Exercício físico

O treinamento aeróbico é uma intervenção de estilo de vida eficaz para atenuar ou até reverter os prejuízos da vasodilatação dependente do endotélio e reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio presentes nas doenças cardiovasculares (COUTO et al., 2018; HÖLLRIEGEL et al., 2013; PIEPOLI et al., 2011; WANG et al, 2010; GREEN, 2009). Esses benefícios acontecem devido ao aumento da biodisponibilidade de NO, aumento da expressão e fosforização da eNOS, aumento na expressão e/ou atividade de enzimas antioxidantes e diminuição nos sistemas de enzimas

pró-oxidantes (COUTO et al., 2018; WANG et al, 2010; LI et al, 2009; DE MORAES et al, 2008; ZANCHI et al, 2008; VONA et al, 2004).

Existem relatos de que o exercício físico aeróbio diminui a expressão de adipocinas relacionadas à inflamação e reduz o estresse oxidativo em diferentes depósitos de tecido adiposo branco (KAWANISHI et al., 2010; SAKURAI et al, 2009). Os primeiros estudos que avaliaram o treinamento físico (aeróbio) sobre o efeito anticontrátil do PVAT utilizaram artéria coronária circunflexa de porcos. Reifenberger e colaboradores (2007) observaram que o PVAT da artéria coronária circunflexa apresentava a capacidade de amortizar a resposta contrátil a endoteliana-1, todavia esse efeito foi abolido na artéria dos animais que foram submetidos ao protocolo de treinamento aeróbio. Posteriormente, esse mesmo grupo, utilizando a mesma artéria e modelo animal, demonstrou que o treinamento aeróbio era capaz de amortizar as respostas contráteis na artéria coronária circunflexa, mas essa melhoria promovida pelo treinamento é independente do PVAT (BUNKER; LAUGHLIN, 2010). Esses autores deixam claro que os efeitos observados podem ser diferentes de outros modelos utilizados, assim como o da artéria utilizada no estudo (BUNKER; LAUGHLIN, 2010; REIFENBERGER et al., 2007).

Recentemente, Araujo e colaboradores, utilizando ratos saudáveis submetidos a 8 semanas de treinamento aeróbio em esteira, mostraram que, apesar do treinamento não ter modificado o efeito anticontrátil promovido pelo PVAT da aorta torácica, aumentou a expressão de proteínas como a eNOS, pAMPK^{thr172} (fosforilação da proteína quinase ativada por AMP no sítio de ativação do resíduo de treonina 172), e mtTFA (fator de transcrição mitocondrial A) (ARAUJO et al, 2015). Além disso, o treinamento reduziu a massa e alterou morfológicamente o PVAT, aumentando visualmente o tecido adiposo marrom e reduzindo o tamanho das gotículas lipídicas (ARAUJO et al, 2015).

Esse mesmo grupo citado anteriormente encontrou aumento do efeito anticontrátil na aorta torácica dos animais que receberam dieta rica em gordura, o que está associado a uma maior resposta inflamatória sistêmica e local, caracterizada pelo aumento da quantidade de PVAT e da expressão da iNOS. Por outro lado, o protocolo de treinamento aeróbio foi capaz de reverter o aumento do efeito anticontrátil do PVAT, reduzindo a quantidade de PVAT e a expressão da iNOS (ARAUJO et al., 2017).

Os diferentes resultados observados enfatizam a necessidade de entender melhor os efeitos do treinamento na função anticontrátil do PVAT, além de avaliar se o

treinamento pode exercer algum efeito sobre a função anticontrátil observada em algumas doenças cardiovasculares.

Grande parte dos estudos utiliza o treinamento aeróbio como uma ferramenta não farmacológica para a da sobrevida, tanto em pacientes quanto em modelos animais com IC (COUTO et al., 2018; PEARSON; SMART, 2017; BRUM et al., 2014; DE MAEYER et al., 2013). Apesar disso, as diretrizes de diversas associações, como a Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte e o Colégio Americano de Medicina do Esporte, recomendam a prática associada do exercício resistido de 2 a 3 dias/semana (PIERCY et al., 2018; GHORAYEB et al., 2013; LEON et al, 2000; WISE et al, 2007; BOCCHI et al, 2009; HASKELL et al., 2007; ADAMS et al, 2006a; ADAMS et al, 2006b).

A utilização apenas do exercício resistido em pacientes infartados foi tardiamente recomendada devido a associações com respostas hemodinâmicas indesejadas, todavia estudos utilizando esse tipo de exercício têm demonstrado que este é seguro e capaz de promover diversos benefícios, tais como: atenuação do declínio da força e resistência muscular esquelética, melhora da capacidade oxidativa, melhora da função vascular dependente e independente do endotélio e da qualidade de vida (HWANG; CHIEN; WU, 2010; BRAITH; BECK, 2008; WILLIAMS et al., 2007; MAIORAMA et al., 2000; POLLOCK et al, 2000). Grans e colaboradores (2014) demonstraram que o exercício resistido reduz o estresse cardíaco global e melhora a modulação autonômica cardíaca, entretanto mais estudos são necessários para melhor compreender essas evidências.

Na tentativa de obter benefícios adicionais de forma segura, pesquisadores têm avaliado a combinação de exercícios aeróbios e resistidos (JIN; RHYU; KIM et al., 2018; SANCHES et al., 2018; ALVES et al., 2017; LIMA et al., 2017; CHRYSOHOOU et al., 2015; DE SOUZA et al, 2014; BANZ et al, 2003). Em pacientes com IC, foi observado que a prática de treinamentos combinados induz benefícios adicionais, tais como aumento da capacidade submáxima de exercício, da força muscular e da qualidade de vida, quando comparados aos pacientes que realizaram apenas uma ou outra modalidade de teinamento, sem apresentar efeitos prejudiciais à função cardíaca (BECKERS et al, 2008). Estes benefícios se estendem à função vascular, visto que a prática dos treinamentos combinados promoveu aumento do relaxamento dependente e independente do endotélio em pacientes com IC (MAIORANA et al, 2000). Além disso, Walsh e colaboradores (2003) obtiveram dados similares, os quais apontam que, em

pacientes com cardiopatia isquêmica, o treinamento combinado, predominantemente de membros inferiores, aumentou a dilatação mediada pelo fluxo na artéria braquial, indicando ajustes endoteliais sistêmicos proporcionados pelo exercício. Esses autores afirmam que a combinação desses dois tipos de exercícios para pacientes com IC é viável, seguro e mais eficaz em termos de capacidade submáxima do exercício (WALSH et al, 2003).

Os dados sobre o efeito do treinamento combinado em pacientes com IC fornecem um forte impulso para outros estudos utilizarem a combinação de exercícios resistidos e aeróbios como ferramenta para a melhoria da saúde, tanto em estudos clínicos quanto em modelos animais, a fim de esclarecer as vias de sinalização envolvidas nos benefícios promovidos pela prática do exercício físico regular (ALVES et al., 2017; BECKERS et al, 2008; BANZ et al, 2003; MAIORANA et al, 2000).

A importância da prática dos dois tipos de exercícios deve-se a diferentes benefícios adquiridos. O exercício aeróbio promove um maior ganho do consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) e de variáveis cardiopulmonares associadas (FRANKLIN et al, 2013; HASKELL et al., 2007). O exercício resistido proporciona maior desenvolvimento de força e resistência muscular. Além disso, auxilia na manutenção da taxa metabólica basal (auxiliando o exercício aeróbio no controle do peso corporal), promove a independência e ajuda a prevenir quedas em idosos (BRAITH; BECK et al., 2008; BANZ et al, 2003; LEON et al, 2000; POLLOCK et al, 2000). De forma geral, ambos os exercícios fornecem benefícios, como a melhora do metabolismo da glicose, redução do LDL e aumento do HDL, redução dos valores de pressão arterial diastólica, aumento da densidade mineral óssea, melhora da função vascular, dentre outros (FONTES et al, 2014; FRANKLIN et al, 2013; FARIA et al, 2010; BRAITH; BECK et al., 2008; HASKELL et al., 2007; ANDERSEN et al, 2003; POLLOCK et al, 2000). Estes benefícios ocorrem tanto na ausência quanto na presença de doenças cardiovasculares, demonstrando a eficiência de ambos os tipos de exercícios tanto para prevenção e promoção da saúde quanto como coadjuvante no tratamento de doenças cardiovasculares (LAVIE et al., 2015; FRANKLIN et al, 2013; LAVIE et al, 2009; GIANNUZZI et al, 2003).

Assim, a literatura tem sugerido a combinação do exercício aeróbio e resistido para promoção de benefícios em pacientes com IC (ALVES et al., 2017; FLEG et al., 2015; BOCCHI et al, 2009; BANZ et al, 2003). Contudo, não há estudos que buscam avaliar os efeitos dessa combinação de exercícios, em dias alternados, na função vascular

em modelos experimentais de IC ou em animais saudáveis. Além disso, também não se conhece a participação do PVAT de artérias revestidas por diferentes tecidos adiposos (branco e marrom) sobre a função vascular. Baseado nisso, existe a necessidade de se estudar os mecanismos pelos quais o treinamento físico é capaz de promover melhorias no sistema vascular na IC, assim como avaliar o possível envolvimento do PVAT no efeito benéfico do treinamento físico sobre o sistema vascular. Sendo assim, a hipótese da presente tese é a de que a função anticontrátil do PVAT está reduzida na IC pós-IM e que o treinamento físico combinado (aeróbico e resistido) é capaz de reverter esta disfunção. Adicionalmente, pretende-se entender a influência do SRA na possível disfunção endotelial e do PVAT em animais com IC pós-IM.

2. OBJETIVO

Avaliar o papel do PVAT e do SRA na reatividade vascular da aorta torácica dos ratos com IC e avaliar a influência do treinamento combinado (aeróbico e resistido) na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com IC.

Para fins didáticos e experimentais, essa tese foi dividida em dois subprojetos:

Subprojeto 1: Avaliar o efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica de animais com IC, assim como a participação do SRA nessa resposta.

Subprojeto 2: Avaliar a influência do treinamento combinado no efeito anticontrátil da aorta torácica e abdominal de animais saudáveis e com IC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais experimentais (subprojeto 1 e 2)

Foram utilizados ratos Wistar com idade entre 2 e 3 meses, pesando 250 ± 20 g, comprados do biotério de criação do Departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB/USP para os experimentos do subprojeto 1, e do Biotério de Produção de Ratos do Instituto de Ciências Biomédicas da ICB/USP para os experimentos do subprojeto 2. Os animais foram mantidos no biotério de manutenção do Departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB/USP, em gaiolas, sob condições controladas de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à água e à alimentação.

Este projeto foi aprovado pelo CEUA do ICB/USP, sob o número 53 na folha 19 do livro 3.

3.2. Obtenção dos modelos experimentais (subprojeto 1 e 2)

Para a indução do IM, os ratos foram anestesiados com mistura contendo cetamina e xilasina (50 e 10mg/kg, respectivamente, *i.p.*). O coração foi exposto por meio de uma toracotomia intercostal esquerda e a artéria coronária descendente anterior foi ligada aproximadamente a 3mm distal à sua origem por meio do uso de um fio mononylon 6.0, como previamente descrito por nosso grupo (COUTO et al., 2015). Posteriormente, o coração foi reposicionado na cavidade torácica e o tórax fechado. O grupo controle (SHAM) passou pelas mesmas etapas descritas acima, com exceção da ligadura da artéria coronariana.

3.3. Avaliação da função ventricular (subprojeto 2)

3.3.1. Exame ecocardiográfico transtorácico

Com a finalidade de avaliar a função do ventrículo esquerdo (VE), de forma não invasiva, foi realizado o exame ecocardiográfico transtorácico. Ele foi realizado 4 semanas pós-IM, com intuito de evidenciar precocemente animais que apresentassem maior prejuízo da função ventricular, sendo classificados como IC, e destiná-los para o programa de TF ou sedentarismo. As medidas ecocardiográficas seguiram as

recomendações do Comitê de Padronização do modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAHN et al., 1998). Foram obtidos os volumes internos do VE ao final da diástole (ViVED) e final da sístole (ViVES) e calculada a fração de ejeção como segue: $FE (\%) = [(ViVED - ViVES)/ViVED] \times 100$. O exame ecocardiográfico foi realizado com os animais anestesiados com uma mistura contendo cetamina e xilasina (50 e 10mg/Kg, respectivamente, *i.p.*). Em seguida, os animais foram tricotomizados e mantidos em decúbito dorsal para a realização do exame utilizando o equipamento Vivid E9 (GE Healthcare, Noruega) com um transdutor 12SD de 4 a 12 MHz. A função sistólica foi avaliada por meio do cálculo da fração de ejeção utilizando o método de Simpson (SCHILLER et al., 1989). Dado prévio do nosso grupo de pesquisa demonstrou correlação negativa entre as variáveis área de infarto e FE (PAULA, 2017). Essa correlação sugere que os animais com área de infarto superior a 30% do ventrículo esquerdo apresentam FE menor que <35%. Assim, estabeleceu-se uma linha de corte, na qual somente os animais infartados com FE <35% foram incluídos nos estudos das disfunções vasculares decorrentes da IC induzida por IM (COUTO et al., 2018).

3.3.2. Quantificação das concentrações do Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP)

Após 4 semanas da cirurgia de indução do IM, os animais foram anestesiados com halotano e o sangue (aproximadamente 1mL) foi coletado por punção do plexo retro-orbital. Utilizando-se um tubo capilar (1,6mm de diâmetro externo), colheu-se sangue em tubo BD vacutainer contendo citrato de sódio como anticoagulante (0,1M). Posteriormente, o sangue foi centrifugado a 3000g a 4°C durante 10 minutos (Eppendorf 5415R, Hamburg - Germany). Posteriormente, foi realizado o ensaio imunoenzimático (ELISA), seguindo as recomendações do fabricante (ab108815 – BNP 32 Rat ELISA kit).

Dados prévios do grupo (PAULA, 2017) demonstram que concentrações plasmáticas de BNP superiores a 0,3ng/mL, em animais 4 semanas pós-IM, correlacionam-se com área de infarto superior a 30% do ventrículo esquerdo. Assim, estabelecemos em nosso laboratório um segundo critério de seleção dos animais infartados, no qual somente seriam selecionados para os estudos das disfunções vasculares decorrentes da IC animais com concentrações plasmáticas de BNP superior a 0,3 ng/mL.

De acordo com as medidas ecocardiográficas e/ou com a concentração plasmática do BNP, os ratos foram distribuídos em 4 grupos: 1) SHAM sedentário (SOs); 2) SHAM treinado (SOt); 3) IC sedentário (ICs); 4) IC treinado (ICt).

3.4. Protocolo de treinamento (subprojeto 2)

Os animais foram submetidos ao protocolo de treinamento, 5 dias/semana, durante 8 semanas. Foram realizados exercícios aeróbios e resistidos em dias alternados, conforme as recomendações do Colégio Americano de Medicina do Esporte, da Associação Americana do Coração e da Sociedade Brasileira de Cardiologia (THOMPSON et al, 2003; LEON et al, 2000; POLLOCK et al, 2000). Os testes de esforço máximo na esteira e de carga máxima na escada foram realizados nas semanas 0, 4 e 8 de protocolo de treinamento, com o objetivo de avaliar o desempenho dos animais e reajustar os valores da intensidade do esforço. Os animais dos grupos SOs e ICs foram mantidos sem exposição a nenhum tipo de treinamento por igual período de tempo. Uma única vez na semana esses animais experimentaram estes exercícios com menores intensidades e volumes, de forma a apresentar habilidade para realização dos testes de esforço máximo e de carga máxima.

3.4.1. Protocolo de treinamento aeróbio (TA)

Os animais passaram pelo período de 1 semana de aclimação na esteira ergométrica adaptada para ratos. Ao final do período de adaptação, os animais foram submetidos ao primeiro teste de esforço máximo, adaptado de Amaral e colaboradores (2000), no qual foi avaliada a capacidade aeróbia máxima por meio de estágios escalonados iniciando na velocidade de 0,3 km/h com incrementos de 0,3 km/h a cada 5 minutos até a exaustão do animal, quando o teste foi concluído.

Foi utilizado o protocolo de TA de moderada intensidade (50% e 60% da carga máxima atingida no teste de esforço com inclinação de 0%), em dias alternados com o treinamento resistido, durante 8 semanas, sendo que o TA iniciou com curtos períodos de 15 a 20 minutos por dia e progrediu até chegar a 1 hora por dia ao final da 3ª semana, alcançando uma velocidade máxima, conforme ajustes de velocidade obtidos por meio do teste de esforço (AMARAL; ZORN; MICHELINI, 2000).

3.4.2. Protocolo de exercício resistido

O protocolo de treinamento resistido (TR) seguiu o modelo de Hornberger e Farrar (2004), que consiste na subida de ratos em escada (1,1m de altura x 0,18m de largura, 2cm de espaço entre os degraus e 80° de inclinação). Inicialmente os ratos passaram por uma semana de adaptação para reduzir o estresse causado pela manipulação e pelo equipamento. Para tal, os animais foram colocados na parte inferior da escada e foram incentivados, por meio de estímulos manuais, a subirem os degraus. Esse procedimento foi repetido até que os animais conseguissem subir voluntariamente 3 vezes consecutivas. Ao final do período de adaptação, os animais foram submetidos ao teste de carga máxima (HORNBERGER; FARRAR, 2004).

O teste para determinação da carga de treinamento consistiu em uma carga inicial de 75% do peso corporal, a qual foi progressivamente aumentada com mais 25% do peso corporal nas subidas subsequentes, até atingir a exaustão do animal (SANCHES et al, 2014). As cargas foram fixadas na parte proximal da cauda com fita adesiva.

A prescrição do TR foi realizada utilizando o valor de carga máxima normalizado para cada rato. O protocolo de TR foi realizado ao longo de 8 semanas, em dias alternados com o TA, em intensidade moderada (40-60% da carga máxima), com 15 subidas por sessão e um intervalo de tempo de 1 min entre subidas. Essa intensidade é considerada moderada e seguiu as recomendações para esta população com doenças cardiovasculares (SANCHES et al, 2014).

3.5. Medidas hemodinâmicas (subprojeto 1 e 2)

Após 48h da última sessão de treinamento, os animais foram anestesiados com uretana (1,2g/kg; *i.p.*) e submetidos à canulação da artéria carótida direita, como fora previamente descrito por nosso grupo (ROSSONI et al., 2006). Para tal, foi utilizado um cateter de polietileno (PE-50) preenchido com solução salina heparinizada (100U/mL) o qual, após canulação da artéria, foi conectado a um transdutor de pressão (SP844, Memscap, Durham, USA), ligado, por sua vez, a um amplificador (ML224 Quad Bridge Amp, ADInstruments, New South Wales, Austrália), o qual estava acoplado a um sistema de aquisição de dados digital (PowerLab, ADInstruments, New South Wales, Austrália)

para aquisição dos registros hemodinâmicos. A frequência de amostragem utilizada para aquisição dos registros foi de 1Hz.

Após estabilização do registro foram avaliadas as medidas de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) e o cateter foi introduzido no ventrículo esquerdo para avaliar pressão sistólica do VE (PSVE), pressão diastólica final do VE (PDfVE), derivada de pressão em função do tempo positiva (dP/dt+) e negativa (dP/dt-) do VE.

A análise destes parâmetros foi realizada utilizando um programa para análise de medidas hemodinâmicas (BloodPressure Module, Chart 5 for Windows, ADInstruments, New South Wales, Austrália). Após as medidas hemodinâmicas, os animais foram mortos e os tecidos, como a aorta torácica e abdominal e seus respectivos PVATs - pulmão, coração e tibia - foram coletados para as análises descritas a seguir.

3.6. Avaliação da hipertrofia cardíaca, da área de infarto e da congestão pulmonar (subprojeto 1 e 2)

Os índices de hipertrofia dos ventrículos direito (VD) e VE foram inferidos a partir da razão entre os pesos do VE ou VD sobre o comprimento da tibia. Cabe ressaltar que o valor do peso do septo interventricular foi adicionado ao valor do VE.

A área de infarto foi determinada por planimetria (MILL et al., 1990). Para tal, a área infartada foi separada do restante do coração e, posteriormente, ambas as fatias foram escaneadas e quantificadas utilizando o programa ImageJ 1.4g (Wayne Rasband, National Institutes of Health, EUA). A área de infarto foi expressa como porcentagem da área total do ventrículo esquerdo (MILL et al, 1990).

A presença de congestão pulmonar foi inferida pela razão peso do pulmão pelo comprimento da tibia.

3.7. Metodologia para avaliação da reatividade vascular em artéria aorta (subprojeto 1 e 2)

As aortas torácica e abdominal foram colocadas em solução de Krebs-Henseleit (composição mM: NaCl 115; KCl 4,6; CaCl₂.2H₂O 2,5; KH₂PO₄ 1,2; MgSO₄.7H₂O 1,2; NaHCO₃ 25; Glicose 11,1; EDTA 0,01), continuamente gaseificada com 95% O₂ e 5% CO₂ e com pH 7,4. Na sequência, segmentos da aorta com PVAT

(PVAT+) ou sem (PVAT-) foram cortados em anéis (3 mm de comprimento) e, em alguns anéis, o endotélio foi removido (E-) por meio de atrito mecânico da superfície interna do vaso com uma haste de aço e, em outros, o endotélio permaneceu intacto (E+).

Para obtenção do registro de tensão isométrica, dois arames metálicos foram passados através do lúmen dos segmentos, um deles foi fixado no banho e o outro acoplado a um transdutor de tensão isométrico (Letica TRI 210, Barcelona, Espanha), conectado a um sistema de aquisição de dados (MP 100, Biopac System Inc., CA, EUA). Os dados gerados foram armazenados em arquivos por meio do software AcqKnowledge (versão 3.8.2, Biopac System Inc., CA, E.U.A.) e do computador (PC Pentium), para posterior análise.

Cada anel foi imerso em uma cuba para órgãos isolados contendo 5mL da solução de Krebs-Henseleit, aquecida a 37°C, continuamente gaseificada com mistura carbogênica (95% O₂, 5% CO₂) e em pH 7,4. As preparações foram submetidas à tensão de repouso de 1g e reajustadas quando necessário, por um período de 45 minutos.

Após o período de estabilização, foi administrado KCl (75 mM) em todos os anéis. Posteriormente, foi realizada uma segunda administração de KCl (75mM) e então aguardados aproximadamente 30 minutos a fim de alcançar o platô da contração. Em seguida, foi testada a integridade do endotélio por meio do relaxamento mediado pela acetilcolina (10µM) em anéis arteriais previamente contraídos com fenilefrina (~ 10µM). O relaxamento igual ou superior a 80% foi considerado como demonstrativo da integridade funcional do endotélio (E+) e o relaxamento inferior a 10% da ausência do endotélio funcional (E-). Desta forma, os anéis de aorta torácica e abdominal foram estudados em quatro condições: com endotélio e PVAT (E+/PVAT+), com endotélio e sem PVAT (E+/PVAT-), sem endotélio e com PVAT (E-/PVAT+) e sem endotélio e sem PVAT (E-/PVAT-).

3.7.1. Protocolo experimental

Após o teste da integridade funcional do endotélio, foi realizada curva-concentração-resposta ao agonista seletivo dos receptores α_1 -adrenérgico, fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} M). A resposta de contração induzida pela fenilefrina foi apresentada em mN e normalizada pelo comprimento do anel (mN/mm). Os valores foram apresentados como resposta máxima (Rmax) ou pD2 (logaritmo negativo da concentração que produz 50% do efeito máximo).

Ao final dos experimentos, o PVAT foi pesado e este valor foi normalizado pelo comprimento do seu respectivo anel.

3.7.1.1. Subprojeto 1

Para a realização dos experimentos que objetivou avaliar a participação do SRA na resposta contrátil à fenilefrina, os anéis arteriais foram pré-incubados, por 30 minutos, com o antagonista do receptor AT1 (Losartana, 10 μ M; ANGELI et al., 2011), do antagonista do receptor AT2 (PD123319, 1 μ M; PADILLA et al., 2014), do antagonista do receptor MAS (A779, 0,1 μ M; LEMOS et al., 2002) e do inibidor não seletivo da sintase de NO (L-NAME, 100 μ M; VICTORIO et al., 2016).

3.7.1.2. Subprojeto 2

Para a realização dos experimentos que objetivou avaliar o papel do TC sobre efeito anticontrátil do PVAT, os anéis arteriais da aorta torácica e abdominal foram pré-incubados, por 30 minutos, com o inibidor não seletivo da sintase de NO (L-NAME, 100 μ M; VICTORIO et al., 2016).

3.8. Medida das espécies reativas derivadas do oxigênio (ERO) (Subprojeto 1)

A geração de ERO foi determinada utilizando-se a dihidroetidina (DHE) como descrito previamente (GIL-ORTEGA et al., 2014).

Para realização dessa técnica, as aortas torácicas revestidas com seus respectivos PVATs foram isoladas e incubadas por 30 minutos, em uma câmera escura, em solução de Krebs-Henseleit (pH 7,4, 37°C) mais DHE (2 μ M) para mensuração respectiva da produção de EROs. Em seguida, esses segmentos foram fixados em paraformaldeído 4% por 4 horas e, posteriormente, imersos em meio de congelamento (Tissue-Tek, Sakura Finetek, Torrance, CA) e congelados imediatamente a -70°C.

Utilizando um criostato (Leica, Alemanha), cortes transversais da aorta (20 μ m) foram obtidos, colocados em lâminas de vidro (Star Frost, Alemanha), circulados com caneta hidrofóbica (Imm Edge, EUA) e incubados, por 10 minutos, com tampão fosfato 0,1M, a 37°C.

As imagens foram capturadas em microscópio óptico (Eclipse 80i, Nikon, Japão) equipado com filtro para rodamina e câmara (DS-U3, Nikon, Japão), utilizando uma objetiva de 20x. Elas foram analisadas utilizando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). A produção de ERO foi avaliada e expressa pela densidade integrada da fluorescência do DHE, nos segmentos da parede vascular da aorta e seu respectivo PVAT.

3.9. Ensaio da Atividade da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)

(subprojeto 1)

3.9.1. Atividade da ECA1

A atividade da ECA1 foi avaliada em anéis de aorta torácica e seu receptivo PVAT. Os tecidos foram homogeneizados em tampão borato 0,4M contendo NaCl 0,9M e sacarose 0,34M (pH 7,2). Os homogeneizados foram centrifugados (Centrifuga Eppendorf 5415R - Hamburgo, Alemanha) por 10 minutos, a 3000 RPM, 4°C e os sobrenadantes foram utilizados para ensaio fluorimétrico para a medida de atividade da ECA.

Os sobrenadantes, a partir de tecido homogeneizado, foram incubados com tampão borato de sódio contendo Hip-His-Leu 5 M; durante 30 minutos a 37°C. A reação foi interrompida pela adição, sob agitação, de solução de NaOH (0,34 M). A seguir, acrescentou-se, sob agitação e protegido da luz, o-phtaldialdeído (20 mg/mL) e, após 10 minutos em temperatura ambiente, essa reação foi interrompida pela adição HCl (3M). Posteriormente, a reação foi submetida à leitura da intensidade de fluorescência no espectrofluorímetro AmincoBowman Série 2 (SLM, Instruments Inc., Rochester, NY, EUA), que permite a passagem de luz em comprimento de onda 365nm para excitação e 495nm para emissão.

Todas as amostras foram avaliadas em duplicatas, sendo que a fluorescência intrínseca da amostra foi corrigida por meio de brancos. No branco a amostra do homogenato era adicionado logo após a reação ser interrompida com NaOH, mantendo as demais etapas do ensaio inalteradas.

Para cada ensaio foi feita uma curva padrão, relacionando a intensidade da fluorescência com quantidades determinadas do produto (His-Leu). As proteínas foram quantificadas por espectrofotometria, pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

A atividade específica foi expressa em nMol His-leu/ min/mg de proteína para cada amostra de tecido (CARNEIRO-RAMOS et al, 2006; SANTOS et al, 1985).

3.9.2. Atividade da ECA2

Para a determinação da atividade da ECA 2 foi realizado um ensaio cinético, com utilização de um substrato fluorogênico (Fluorogenic Peptide Substrate VI - R&D Systems) (FRAGA-SILVA et al, 2013). Para isso, as amostras da aorta torácica e seu respectivo PVAT foram homogeneizados com tampão de extração contendo Tris-HCl (750mM) e ZnCl₂ (5µM), pH 7,5 e centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C. A concentração de proteína nos homogeneizados foi quantificada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

Uma solução de reação foi preparada, contendo 70µg de proteína do homogenato da aorta torácica e do PVAT, NaCl (5M), captopril (10µM) e substrato peptídico fluorogênico (R&D Systems) sendo o volume completado para 100µL com tampão de extração 1X. Imediatamente após a adição do substrato, o ensaio cinético foi iniciado e a fluorescência emitida foi medida em intervalos de 1 minuto durante 1 hora a 37 °C a 320nm de excitação e 405nm de emissão (Biotek Instruments, Sinergy HT, USA). Para um controlo negativo, adicionou-se 10µM de inibidor peptídico específico de ACE2 (Dx600 Linear - Phoenix Pharmaceuticals, INC) à reacção e, para um controlo positivo, 5µM de ACE2 humano recombinante (rhACE2 - R & D Systems, EUA). Leituras de fluorescência de fundo foram obtidas de reacções sem amostras de tecido e a atividade enzimática final das amostras foi corrigida pelo valor de fundo obtido (DINIZ et al., 2016). O resultado foi obtido por meio da média dos últimos 5 minutos de leitura, sendo todos os resultados normalizados pelo branco. A atividade da ECA2 foi expressa em unidades de fluorescência/minuto/mg de proteína.

3.9.3. Reação de transcrição reversa (RT-PCR) (subprojeto 1 e 2)

O RNA total de amostras de aorta torácica para o subprojeto 1 e do PVAT da aorta abdominal e torácica para o subprojeto 2 foram extraídos de acordo com as especificações do fabricante do reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, California, EUA). A qualidade da extração do RNA das amostras foi avaliada por meio da razão entre as

absorbâncias de $\lambda=260\text{nm}$ e $\lambda=280\text{nm}$. A concentração de RNA total foi determinada em espectrofotômetro de alta sensibilidade (Gen5 Data Analysis Software, BioTek, Winooski, Vermont, EUA). A integridade do RNA extraído foi confirmada por meio da análise das subunidades de RNA ribossomal (18S e 28S) sob luz UV, após separação por eletroforese em gel de agarose (1%) contendo brometo de etídio. A reação de transcrição reversa para síntese da fita complementar ao mRNA (cDNA) foi realizada utilizando-se 5 μg de RNA total, segundo as especificações do fabricante da enzima transcriptase reversa (M-MLV Reverse Transcriptase, Invitrogen/Life Technologies, Carlsbad, California, EUA) em termociclador (PTC 200 Termocycler, MJ Research, Waltham, Massachusetts, EUA). As reações de RT-PCR em tempo real foram realizadas segundo as especificações do fabricante do coquetel de reagentes (Platinum SYBR Green qPCR UP Ser Mix-UDG, Invitrogen/Life Technologies, Carlsbad, California, EUA). Os níveis de cDNA foram determinados por meio do cálculo $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$, sendo $\Delta\Delta\text{Ct} = (\Delta\text{Ct Tratado} - \Delta\text{Ct Controle})$ e $\Delta\text{Ct} = (\text{Ct gene interesse} - \text{Ct controle interno})$. O valor do Ct representa a linha de base para detecção da fluorescência emitida, correspondente à fase exponencial. Os primers foram adquiridos da Invitrogen (Thermo Fisher Scientific), e as sequências utilizadas encontram-se na tabela 1.

Os genes avaliados no subprojeto 1 (receptores AT1, AT2 e MAS e ECA 1 e 2) foram normalizadas pelo GAPDH, os demais genes avaliados no subprojeto 2 foram normalizados pelo HPRT1.

Tabela 1. Sequências dos primers utilizados

Genes	Sequência do primer
Receptor AT1R	Sense: 5'CACTTTCCTGGATGTGCTGA3'
	Anti sense: 3' CCCAGAAAGCCGTAGAACAG 5'
Receptor AT2R	Sense: 5'GTAAGAATTTGGAGTTGCTG 3'
	Anti sense: 3' GGGATTCCTTCTTTGAGAC 5'
Receptor MAS	Sense: 5'CCCACCCATTCCCATAGTGC
	Anti sense: 3' CCGAGAGGAGAGATGCTCATG 5'
GAPDH	Sense: 5'TGGTGGACCTCATGGCCTAC 3'
	Anti sense: 3' CAGCAACTGAGGGCCTCTCT 5'
eNOS	Sense: 5'GGATCCAGTGGGGGAAACTG 3'
	Anti sense: 3'TGGCTGAACGAAGATTGCCT 5'

HPRT1	Sense: 5'ACAGGCCAGACTTTGTTGGA 3' Anti sense: 3'TGGCTTTTCCACTTTCGCTG 5'
MCP1	Sense: 5'TGTCTCAGCCAGATGCAGTT 3' Anti sense: 3'CAGCCGACTCATTGGGATCA 5'
IL-6	Sense: 5'CATTCTGTCTCGAGCCCACC 3' Anti sense: 3'GCTGGAAGTCTCTTGCGGAG 5'
IL-10	Sense: 5'ACGCTGTCATCGATTTCTCCC 3' Anti sense: 3'GTCACGTAGGCTTCTATGCAGT 5'
TNF-α	Sense: 5'GTGATCGGTCCCAACAAGGA 3' Anti sense: 3'CTTGGTGGTTTGCTACGACG 5'
Tcf-21	Sense: 5'TCCAAGCTGGACACTCTCAG 3' Anti sense: 3' TAAAGGGCCAAGTCAGGTTGA 5'
UCP-1	Sense: 5'ATCTTCTCAGCCGGCGTTTC 3' Anti sense: 3'CCTTGGATCTGAAGGCGGAC 5'
Receptor β3 adrenérgico	Sense: 5'TAGCAAGGAGCCTGACTTCTG 3' Anti sense: 3'TTGGTTCTGGAGAGTTGCGG 5'
PRDM16	Sense: 5'TGATGGCCGCTTGGAAGA 3' Anti sense: 3'TCACTGCCATCCGACATGTC 5'
EPSTI 1	Sense: 5'TGACGGCTGGGGTATATGAGA 3' Anti sense: 3'AGTGGGTGGGCAGTTGAAAT 5'

3.10. Quantificação da adiponectina do PVAT (subprojeto 2)

O PVAT da aorta torácica foi homogeneizado em PBS (proporção de 1mg de tecido para 10 μ L de PBS). Os homogenatos dos PVATs foram centrifugados (4000 rpm por 15 min a 4°C) e o sobrenadante foi diluído no diluente de ensaio RD1W (R&D, Minneapolis, EUA.) na proporção de 1:10. As proteínas foram quantificadas por espectrofotometria pelo método BCA (Thermo Scientific™ Pierce™, Illinois, EUA) e em seguida as amostras foram diluídas para que todas as amostras estivessem na concentração de 10ng/ μ L. Posteriormente, a adiponectina foi quantificada usando o kit comercial de ELISA seguindo instruções do fabricante (R&D, Minneapolis, EUA). Os valores foram expressos em ng de adiponectina por μ g de proteína.

3.11. Western Blotting (subprojeto 2)

As aortas torácica e abdominal e o PVAT da aorta torácica foram homogeneizados em tampão de lise RIPA imerso em gelo (Merck Milipore, Billerica, MA, EUA), o qual contém inibidores de protease, tais como: ortovanadato de sódio (100mM; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), fluoreto de fenil metano sulfonil (PMSF, 10mM; Amresco, Solon, OH, USA) e coquetel inibidor de protease (1:5000 de diluição; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA); e inibidores de fosfatase, tais como: fluoreto de sódio (100mM; Synth, São Paulo, Brasil) e pirofosfato de sódio (10mmol/L; Synth, São Paulo, Brasil).

Os homogenatos das aortas e dos PVATs foram centrifugados (4000rpm por 15 minutos a 4°C; centrífuga Eppendorf 5415R, Hamburgo, Alemanha) e o sobrenadante foi isolado. O homogenato do PVAT passou por uma nova centrifugação (20000rpm por 10 minutos a 4°C; centrífuga Eppendorf 5417R, Hamburgo, Alemanha). As proteínas foram quantificadas por espectrofotometria pelo método BCA (Thermo Scientific™ Pierce™, Illinois, EUA), em seguida foram extraídas (50µg para a aorta e 75µg para o PVAT), separadas em gel de poliacrilamida (Bio-Rad; Hercules, CA, USA) por meio de eletroforese e posteriormente transferidas para membrana de PVDF (AmerSHAM-GE Healthcare, Little Chalfont, UK) por 12 horas a 4°C usando um Mini Trans-Blot Cell system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) contendo tampão de transferência (Tris, 25mM; glicina 190mM; metanol a 20% e SDS a 0,05%). Em seguida, as membranas foram bloqueadas com albumina de soro bovino a 5% (Inlab, São Paulo, SP, BR) e incubadas por 12 horas a 4°C com anticorpo primário anti eNOS (1:1000; código: 610297, BD Transduction Laboratories, San Jose, CA), anti AMPK α 1/2 (1:1000; sc25792. Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA) e anti α -actina (1:30000; 2547; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA).

As membranas foram lavadas e incubadas com anticorpo IgG anti *mouse* conjugado com peroxidase (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) para eNOS e α -actina e anticorpo IgG anti *rabbit* conjugado com peroxidase (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) para AMPK α 1/2.

Para as membranas do PVAT a coloração com o Ponceau (coloração para detecção rápida reversível de bandas de proteína em membranas) foi utilizada para normalizar a expressão das proteínas avaliadas em cada amostra (ROMERO-CALVO et al., 2010).

As membranas foram lavadas e incubadas com um sistema de quimioluminescência de *horseradish peroxidase-luminol* (ECL; GE Healthcare, buckinghamshire, UK) ou (ECLplus; Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) para detectar os imunocomplexos luminescentes, os quais foram expostos ao filme radiográfico (Kodak BioMax MR film, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Os sinais de imunoblot e a coloração com o Ponceau foram quantificados usando o programa Scion Image (Scioncorp, NIH, Bethesda, MD, USA) e foram normalizados pelos seus respectivos controles, α -actina para as aortas e o Ponceau para o PVAT.

3.12. Análises estatísticas (subprojeto 1 e 2)

Os resultados foram apresentados como média \pm EPM. A análise estatística dos resultados foi realizada por teste *t*, pareado e/ou não pareado, e análise de variância (ANOVA), uma ou duas vias, medidas repetidas ou completamente randomizadas, quando apropriado. Quando a ANOVA apresentou significância estatística, o teste post-hoc de Bonferroni foi aplicado (GraphPadPrism Software, San Diego, CA, E.U.A). Os resultados foram considerados estatisticamente significantes para valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação do sistema renina angiotensina no prejuízo do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica dos ratos com IC

4.1.1. Parâmetros hemodinâmicos e morfométricos

Doze semanas após a cirurgia de indução do IM ou da cirurgia fictícia, foi realizado o cateterismo cardíaco nos animais. Como observado na tabela 2, os animais com IC apresentaram redução da pressão sistólica arterial (PAS), pressão sistólica do VE (PSVE) e das derivadas temporais positiva e negativa da pressão do ventricular (dP/dt+ e dP/dt-), além do aumento nos valores de pressão diastólica arterial (PAD) e da pressão diastólica final do VE (PDFVE). Os valores de frequência cardíaca (FC) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros hemodinâmicos. Parâmetros hemodinâmicos arteriais e do ventrículo esquerdo, 12 semanas pós-IM (IC) ou da cirurgia fictícia (SO)

	SO (39)	IC (45)
PAS (mmHg)	126,12 ± 2,23	109,73 ± 1,25*
PAD (mmHg)	65,48 ± 2,82	74,24 ± 2,07*
FC (bpm)	343,96 ± 5,97	339,85 ± 4,02
PSVE (mmHg)	139,57 ± 2,12	120,71 ± 1,31*
PDFVE (mmHg)	4,28 ± 0,49	13,15 ± 1,49*
dP/dt+ (mmHg/s)	8064 ± 246,04	5608 ± 157,00*
dP/dt- (mmHg/s)	-4941 ± 127,02	-3932 ± 106,88*

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PSVE, pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDFVE, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt+, derivada de pressão do ventrículo esquerdo em função do tempo positiva; dP/dt-, derivada de pressão do ventrículo esquerdo em função do tempo negativa. Os valores estão expressos como média ± EPM. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se entre parêntesis. Análise estatística: teste-t; *p<0,05 vs. SO.

Os animais do grupo IC apresentaram, no VE, uma área de cicatriz de 37,5% (tabela 3). O peso corporal foi reduzido nos animais com IC, sem alteração no comprimento da tíbia (tabela 3). Desta forma, os demais parâmetros morfométricos foram corrigidos pelo comprimento da tíbia (Tabela 3).

A IC promoveu aumento nas razões peso do pulmão (Pulmão/T) e do ventrículo direito (VD/T) normalizados pelo comprimento da tíbia (tabela 3). Por sua vez, a razão peso do VE pelo comprimento da tíbia (VE/T) não foi alterada entre os grupos, apesar da grande área de cicatriz (tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros morfométricos. Valores morfométricos 12 semanas pós-IM (IC) ou da cirurgia fictícia (SO)

	SO (39)	IC (45)
Área de infarto (% VE)	-	37,50 ± 0,86
Peso Corporal (g)	470,89 ± 9,31	442,40 ± 8,71*
Tíbia (mm)	41,64 ± 0,17	41,28 ± 0,17
Pulmão/T (mg/mm)	50,42 ± 2,03	92,01 ± 3,34*
VD/T (mg/mm)	4,97 ± 0,13	12,67 ± 0,34*
VE/T (mg/mm)	19,06 ± 0,34	18,25 ± 0,47

VD/T, razão entre o peso do ventrículo direito e o comprimento da tíbia; VE/T, razão entre o peso do ventrículo esquerdo e o comprimento da tíbia; Pulmão/T, razão entre o peso úmido do pulmão e o comprimento da tíbia; Área de infarto (% VE), percentual de área de infarto do ventrículo esquerdo. Os dados estão expressos como média ± EPM. O número de animais utilizados em cada grupo está entre parêntesis. Análise estatística: teste-*t*; **p*<0,05 vs. SO.

4.1.2. Avaliação da reatividade vascular e do efeito anticontrátil do PVAT

Conforme já descrito na literatura, a presença do PVAT foi capaz de reduzir a contração à fenilefrina de anéis E+/PVAT+ da aorta torácica de animais SO (Figura 1). Todavia, nos anéis E+/PVAT+ dos animais IC, esse efeito anticontrátil foi de magnitude inferior (Figura 1). A resposta máxima foi alterada pela presença do PVAT apenas na aorta torácica dos animais SO, sem alterar a pD₂ em nenhum dos grupos (Tabela 4 e 5).

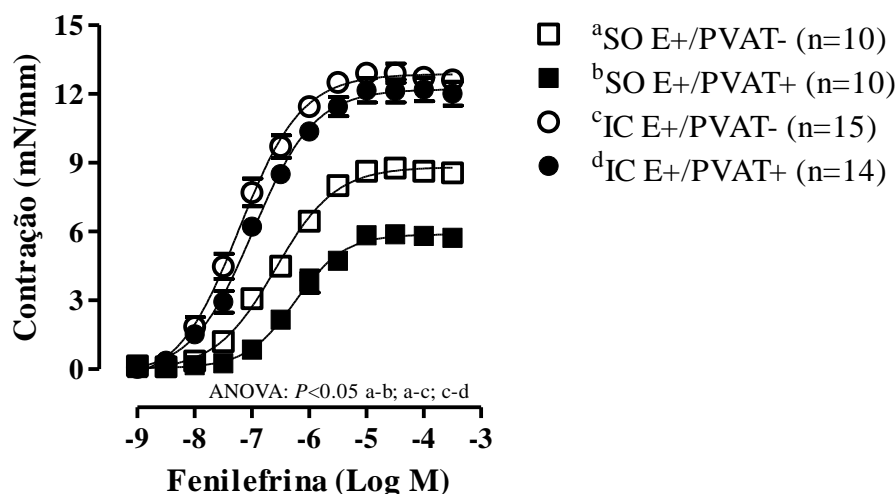


Figura 1. Curva concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com endotélio funcional (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) e com insuficiência cardíaca (IC). Os resultados são expressos como média ± EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, para as diferenças entre as curvas (*p*<0,05).

Como observado na Figura 1, a fenilefrina promoveu contração dependente de concentração em todas as condições avaliadas, todavia, nos anéis dos animais IC essa contração foi de magnitude superior às observadas nos anéis dos animais SO, apresentando aumento tanto na resposta máxima quanto na pD2 (Tabela 4 e 5).

De forma similar ao efeito do PVAT, o endotélio tem a capacidade de reduzir a resposta contrátil à fenilefrina. Na Figura 2 A, quando o endotélio (E-/PVAT-) foi removido, a resposta contrátil à fenilefrina foi amplificada nos anéis dos animais SO quando comparada à condição E+/PVAT-, aumentando não só a resposta máxima como também a pD2 (Figura 2 A, Tabelas 4 e 5). Nos anéis dos animais IC, não foi observada diferença significativa com a remoção do endotélio, tanto na resposta máxima quanto na pD2 (Figura 2 B, Tabelas 4 e 5).

Posteriormente, avaliou-se o envolvimento do endotélio no efeito anticontrátil do PVAT. Como mostrado na Figura 2, a presença do PVAT nos anéis sem endotélio (E-/PVAT+) reduziu a resposta contrátil à fenilefrina em ambos os grupos. No entanto, quando se avaliou as diferenças nas respostas máximas e pD2, apenas nos anéis dos animais SO obtiveram diferenças significativas (Tabelas 4 e 5).

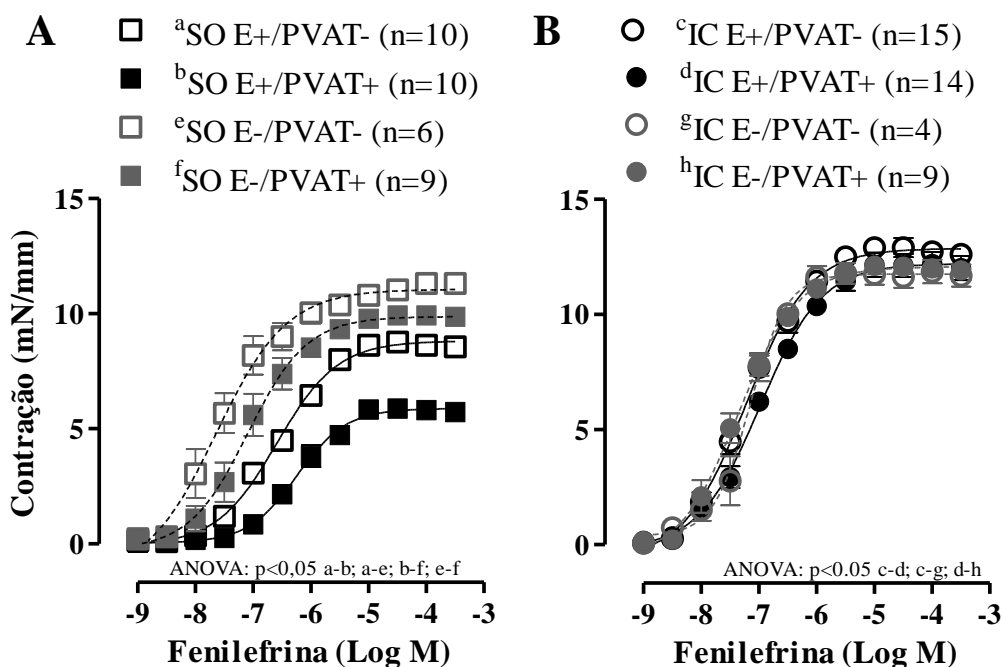


Figura 2. Curva concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem endotélio funcional (E-), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) (A) e com insuficiência cardíaca (IC) (B). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de duas vias, para as diferenças entre as curvas ($p < 0,05$).

4.1.3. Avaliação da atividade e expressão gênica dos componentes do SRA na aorta torácica e no PVAT de animais SO e IC

Para investigar o envolvimento do SRA nas disfunções endotelial e do PVAT em anéis de aorta torácica de animais com IC, avaliou-se a atividade e a expressão gênica da ECA1 e 2.

A atividade da ECA1 não foi diferente na aorta torácica dos animais IC quando comparada aos animais SO (Figura 3 A). Entretanto, de forma interessante, no PVAT foi observado aumento da atividade da ECA-1, quando comparada à atividade medida na aorta torácica (Figura 3 A). Por sua vez, o PVAT da aorta torácica dos animais IC apresentou aumento significativo na atividade da ECA1, quando comparado ao PVAT dos animais SO (Figura 3 A).

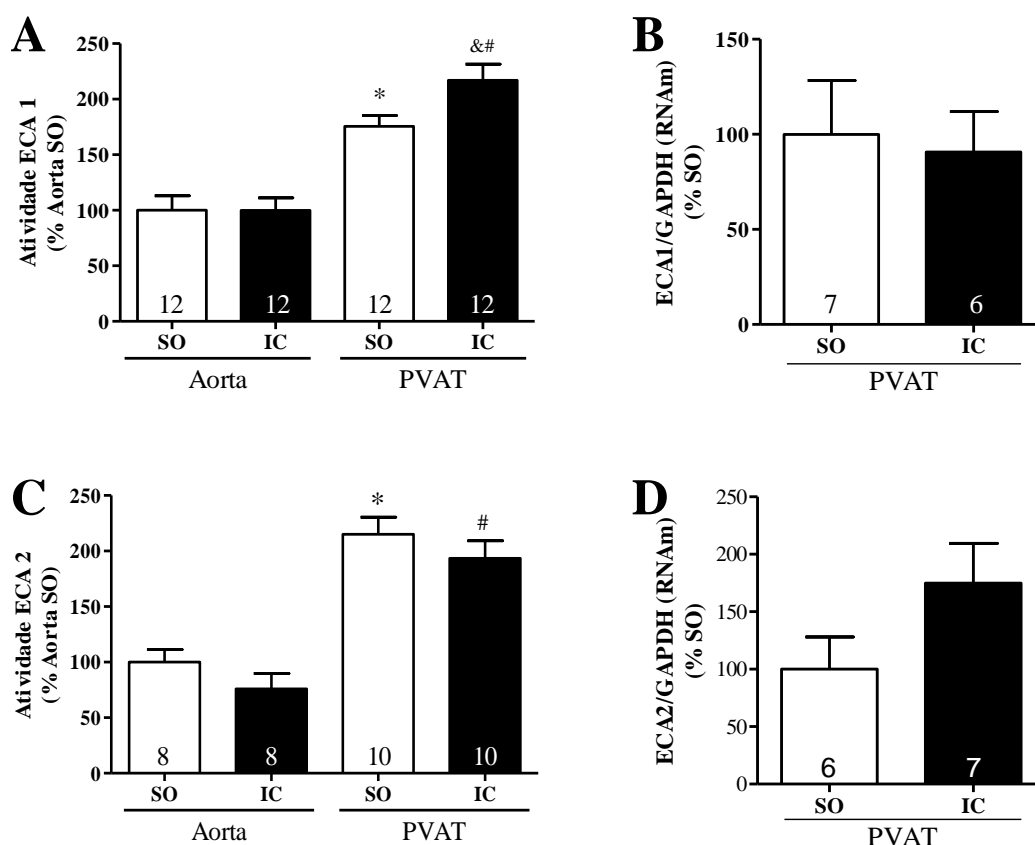


Figura 3. Atividade das enzimas conversora de angiotensina 1 (ECA1; A) e 2 (ECA2; C) na aorta e nos respectivos PVAT e expressão gênica da ECA1 (B) e da ECA2 (D) no PVAT em animais falso operado (SO) e com insuficiência cardíaca (IC). A atividade da ECA1 foi expressa em nmol His-Leu/min/ μ g e a ECA2 foi expressa em u.a./min/ μ g. Os resultados são expressos como média \pm EPM do % de variação em relação aos valores obtidos nos animais SO. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo ANOVA duas vias para os experimentos da atividade da ECA1 e 2 e Teste-t para os experimentos de expressão gênica. ($p < 0,05$; *vs. SO aorta; #vs. SO PVAT; § vs. IC aorta).

Quanto à atividade da ECA2, não houve diferenças significativas em sua atividade entre as aortas dos animais SO e IC (Figura 3 C), todavia, de forma semelhante ao obtido na atividade da ECA1 (Figura 3 A), a atividade da ECA2 estava aumentada no PVAT quando comparada à atividade medida na aorta (Figura 3 C). Por sua vez, essa atividade não diferiu entre os grupos (Figura 3 C).

Não foram observadas modificações significativas na expressão gênica nem da ECA1 (Figura 3 B) nem da ECA2 no PVAT da aorta torácica (Figura 3 D).

Na aorta torácica a expressão dos receptores AT1 e AT2 não foi alterada pela IC (Figura 4 A e B), entretanto observou-se aumento na expressão gênica do receptor MAS na aorta dos animais com IC (Figura 4 C). Quando esse experimento foi realizado nos respectivos PVATs, observou-se aumento na expressão gênica dos três receptores avaliados no PVAT dos animais com IC, quando comparado ao PVAT dos animais SO (Figura 4 D, E e F).

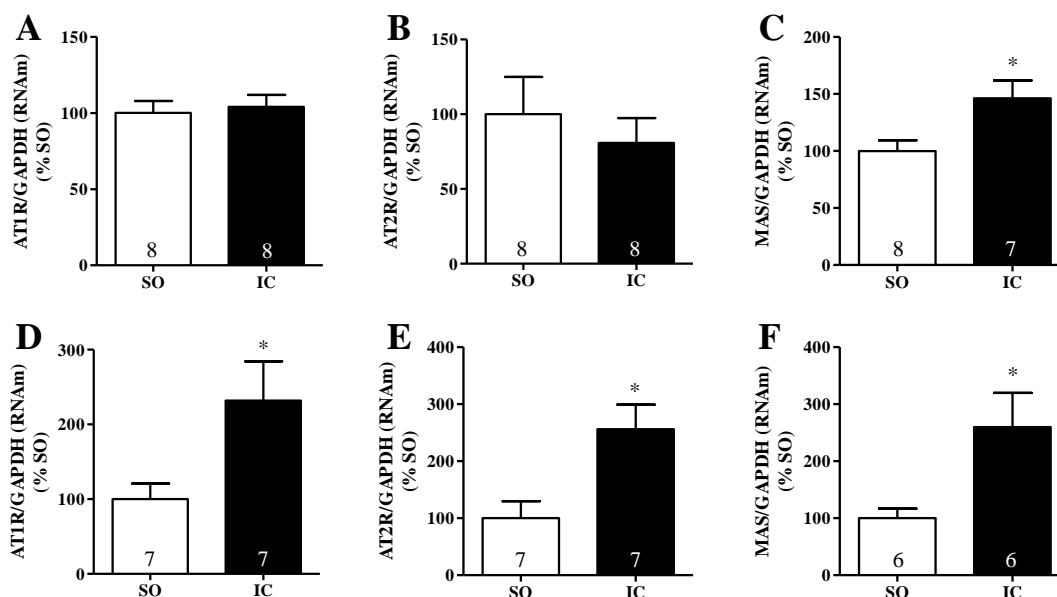


Figura 4. Expressão gênica dos receptores AT1 (A e D), AT2 (B e E) e MAS (C e F), na aorta torácica (A, B e C) e nos respectivos PVAT (D, E e F) dos animais falso-operados (SO) e com insuficiência cardíaca (IC). Os resultados são expressos como média \pm EPM do % de variação em relação aos valores obtidos nos animais SO. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo Teste-*t*, ($p < 0,05$; *vs. SO).

4.1.4. Avaliação da influência do SRA no efeito do endotélio e do PVAT na resposta contrátil induzida pela fenilefrina na aorta torácica de animais SO e IC

A fim de avaliar o envolvimento dos receptores do SRA no efeito anticontrátil do PVAT e nas disfunções observadas na aorta torácica dos IC, avaliou-se a resposta contrátil à fenilefrina em anéis de aorta torácica na presença de antagonista dos principais receptores desse sistema.

Como observado na Figura 5, a incubação com losartana (LOS) reduziu, significativamente, a contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT- e E+/PVAT+ dos animais SO e IC (Figuras 5 A, B e 5 E, F, respectivamente), no entanto a magnitude dessa redução foi maior nos anéis provenientes dos animais IC. Avaliando a resposta máxima, observa-se que a magnitude dessa redução foi similar entre os anéis E+/PVAT- (18%) e E+/PVAT+ ($\approx 22\%$) dos SO (Tabela 4), enquanto, nos anéis E+/PVAT+ ($\approx 37\%$) dos IC, a magnitude dessa resposta foi maior quando comparada aos anéis E+/PVAT- ($\approx 29\%$) (Tabela 4). A presença da LOS não modificou a pD2 em nenhum dos grupos ou condição. Nos anéis E-/PVAT-, a incubação com LOS não modificou a contração induzida pela fenilefrina dos animais SO e IC (Figuras 5 C e 5 G, respectivamente e Tabelas 4 e 5). Quando o PVAT foi mantido nos anéis sem endotélio (E-/PVAT+), a incubação com LOS não modificou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis dos animais SO (Figura 5 D, Tabela 4 e 5); porém, significativamente, reduziu a contração nos anéis dos IC ($\approx 18\%$) (Figura 5 H, Tabela 4 e 5).

Na sequência, avaliamos a participação dos receptores AT2 na modulação da vasoconstrição induzida pela fenilefrina. Como esperado frente à literatura, a incubação com PD123319 aumentou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT- dos animais SO ($\approx 22\%$) (Figura 6 A, Tabela 4). Por sua vez, de maneira surpreendente e inédita, a incubação com o antagonista do receptor AT2 reduziu, significativamente, a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com PVAT (anéis E+/PVAT+) dos animais SO (Figura 6 B), todavia essa redução foi de pequena magnitude visto que não foram detectadas diferenças significativas nem na Rmax nem na pD2 (Tabela 4 e 5). Na ausência do endotélio (E-/PVAT+), a incubação com PD123319 não modificou a contração induzida pela fenilefrina tanto na ausência (Figura 6 C) como na presença do PVAT (E-/PVAT+) (Figura 6 D).

De maneira surpreendente, a incubação com PD123319 reduziu a contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT- dos animais IC ($\approx 12\%$) (Figura 6 E). Adicionalmente, o antagonismo do receptor AT2 também reduziu a contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT+ dos IC (Figura 6 F); no entanto, observando as modificações na Rmax, a magnitude dessa resposta foi maior na presença do PVAT

(E+/PVAT+; $\approx 35\%$), quando comparada aos E+/PVAT- ($\approx 12\%$) (Figuras 6 E, F e Tabela 4 e 5). Indo ao encontro desses resultados nos anéis sem endotélio, a incubação com PD123319 não modificou a resposta contrátil à fenilefrina nos anéis E-/PVAT- (Figura 6 G); porém, significativamente, reduziu-a nos anéis E-/PVAT+ ($\approx 19\%$) (Figura 6 H), dado esse que foi confirmado pela redução da resposta máxima (Tabela 4).

A incubação com A779 induziu um pequeno, porém significativo aumento da contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT- e E-/PVAT- dos animais SO (Figuras 7 A e C). Por outro lado, o antagonismo do receptor MAS não modificou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com PVAT (E+/PVAT+ e E-/PVAT+) dos SO (Figuras 8 B e D). Quando avaliamos a R_{max} e na pD_2 , não foram encontradas diferenças entre a ausência e a presença do antagonista do receptor MAS em nenhuma das condições dos anéis dos animais SO.

De forma contrária, a incubação com A779 reduziu, significativamente, a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com endotélio dos animais IC, na ausência ou presença do PVAT (E+/PVAT- e E+/PVAT+) (Figuras 7 E e 7 F, respectivamente), sendo que a magnitude dessa redução da R_{max} foi similar (E+/PVAT-: $\approx 17\%$; E+/PVAT+: $\approx 16\%$) (Tabela 4), sem alterar a pD_2 (Tabela 5). Na mesma direção, nos anéis sem endotélio (E-/PVAT- e E-/PVAT+) dos IC, o antagonismo do receptor MAS também reduziu a contração induzida pela fenilefrina (Figuras 7 G e H). No entanto, na ausência do endotélio e do PVAT, o efeito do antagonismo do receptor MAS sobre a contração da fenilefrina, nos IC, foi significativamente menor quando comparado aos anéis com endotélio e sem PVAT (E-/PVAT-: $\approx 8\%$; E-/PVAT+: $\approx 12\%$) (Figura 7). As avaliações da R_{max} e da pD_2 nos anéis E-/PVAT- e E-/PVAT+ não apresentaram diferenças significativas nem na resposta máxima nem na pD_2 (Tabela 4 e 5).

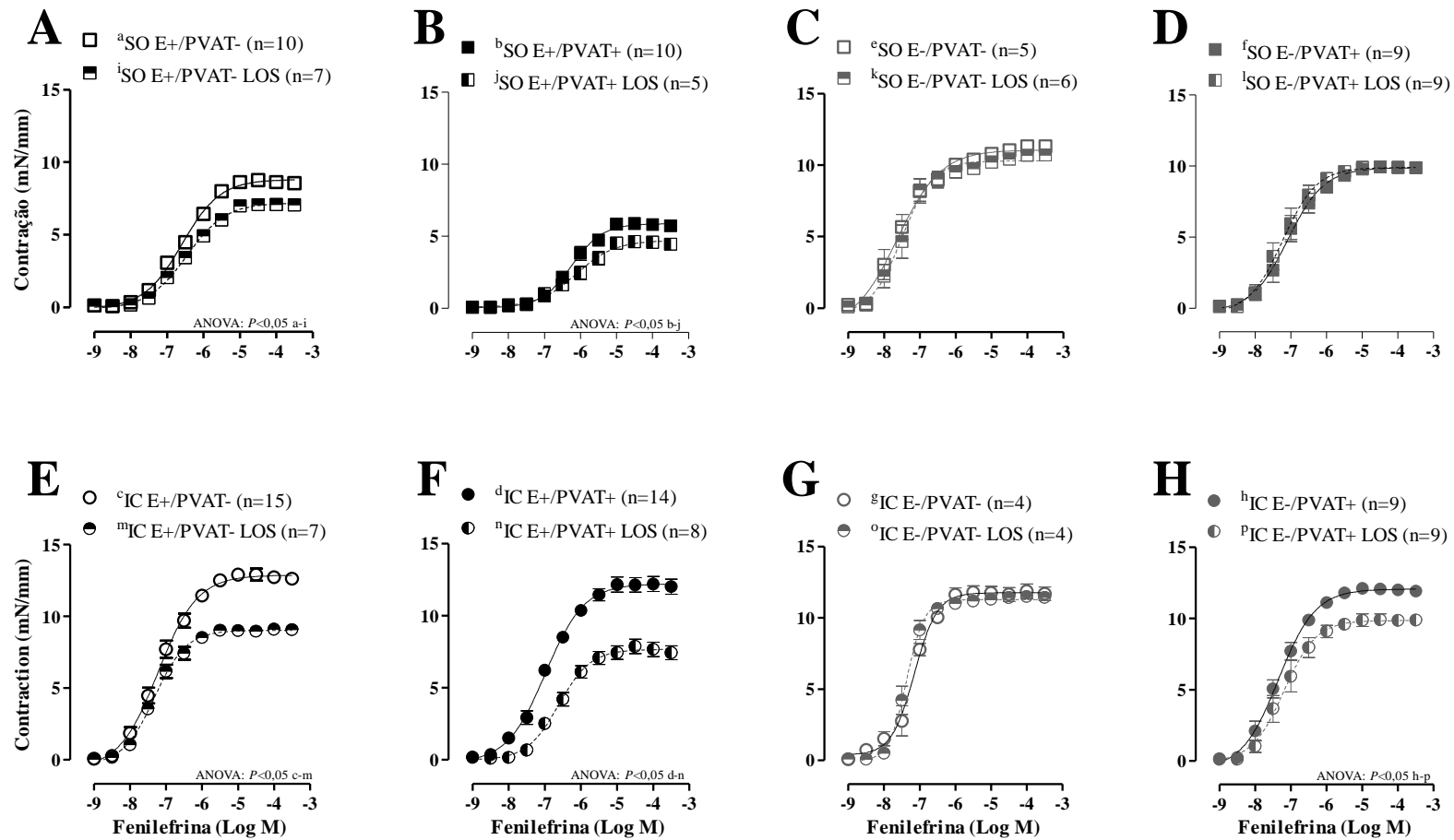


Figura 5. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) (A, B, C e D) e com insuficiência cardíaca (IC) (E, F, G e H). Em alguns desses anéis, a curva concentração-resposta à fenilefrina foi realizada na presença do antagonista do receptor AT1 (Losartana, LOS, 10 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

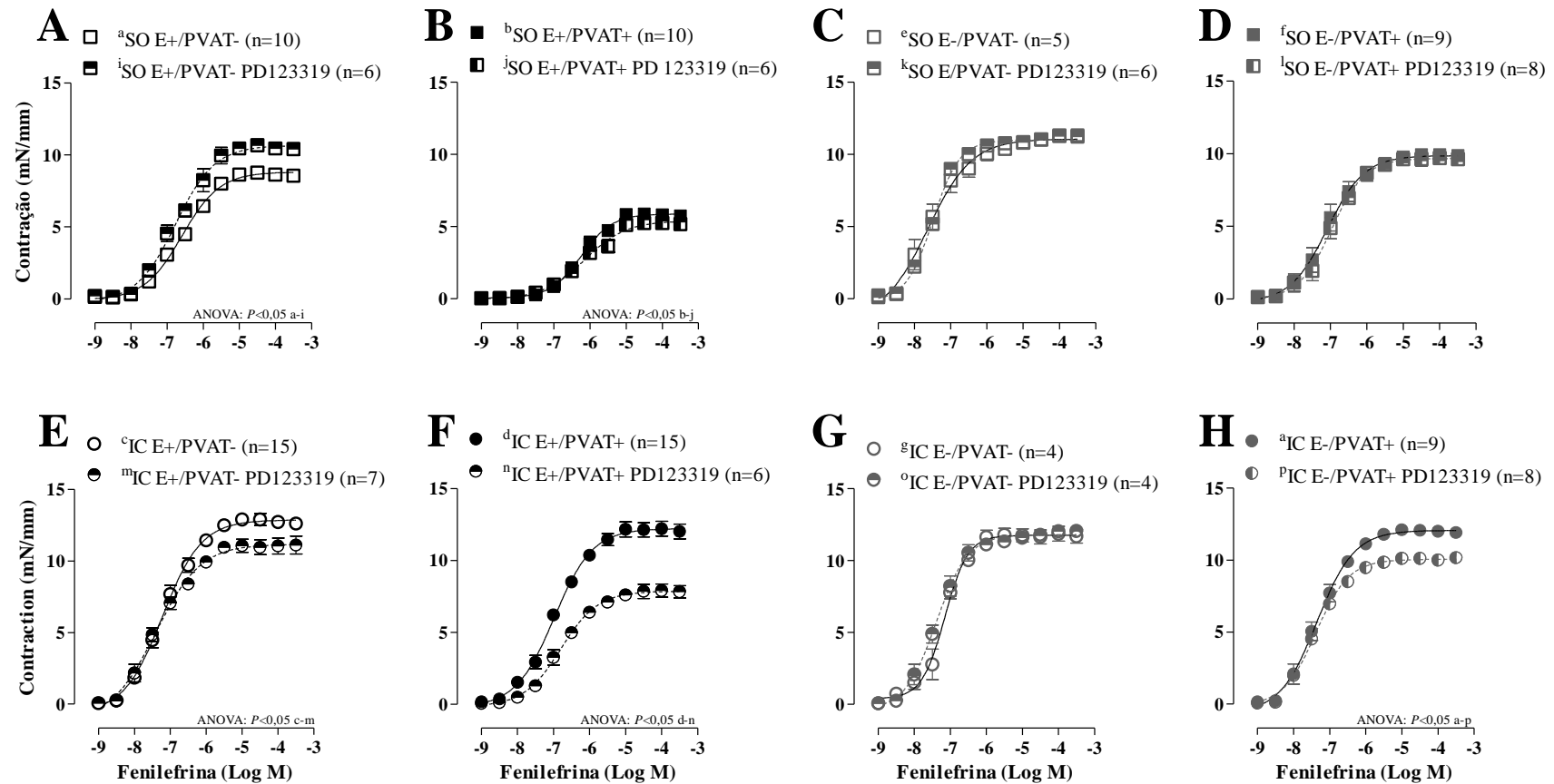


Figura 6. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) (A, B, C e D) e com insuficiência cardíaca (IC) (E, F, G e H). Em alguns desses anéis, a curva concentração-resposta à fenilefrina foi realizada na presença do antagonista do receptor AT₂ (PD 123319, 1 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

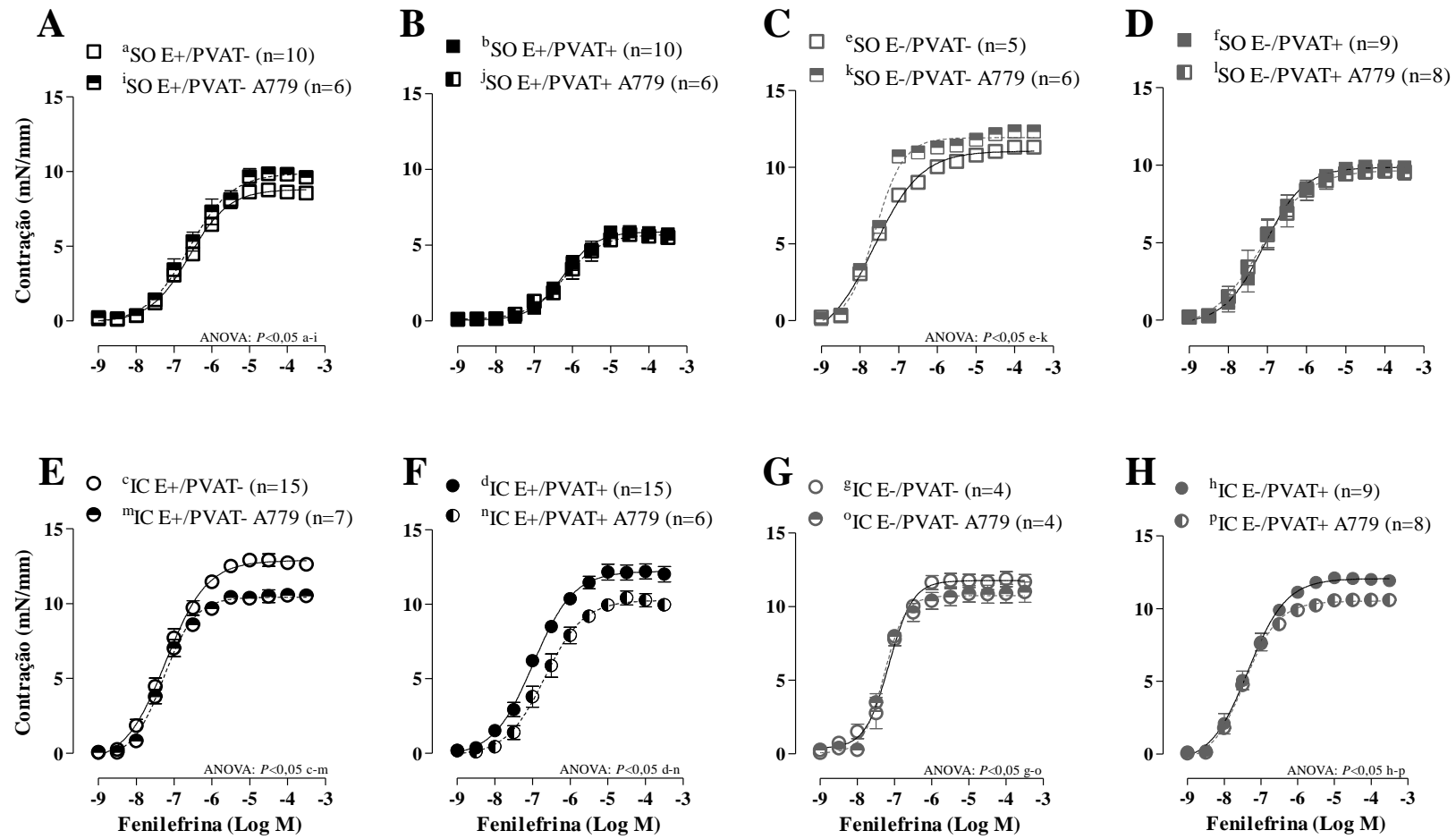


Figura 7. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) (A, B, C e D) e com insuficiência cardíaca (IC) (E, F, G e H). Em alguns desses anéis, a curva concentração-resposta à fenilefrina foi realizada na presença do antagonista do receptor MAS (A779, 0,1 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

Tabela 4 – Resposta máxima. Valores de resposta máxima nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença dos antagonistas dos receptores AT1 (Losartana). AT2 (PD123319) e MAS (A779), 12 semanas pós-IM (IC) ou da cirurgia fictícia (SO)

CONDIÇÃO	RESPOSTA MÁXIMA (mN/mm)							
	CONTROLE		LOSARTANA		PD123319		A779	
	SO	IC	SO	IC	SO	IC	SO	IC
E+/PVAT-	8,79 ± 0,28 (10)	12,85 ± 0,39*	7,24 ± 0,14 ^Ω (7)	9,09 ± 0,29 ^Ω (7)	10,71 ± 0,41 ^Ω (6)	11,32 ± 0,61 (7)	9,90 ± 0,36 (6)	10,48 ± 0,31 ^Ω (7)
E+/PVAT+	5,91 ± 0,26 [•] (10)	12,20 ± 0,54*	4,65 ± 0,25 ^{•Ω} (5)	7,68 ± 0,48 ^Ω (8)	5,37 ± 0,16 [•] (6)	7,90 ± 0,47 ^{•Ω} (6)	5,68 ± 0,37 [•] (6)	10,22 ± 0,33 ^Ω (8)
E-/PVAT-	11,01 ± 0,30 [•] (6)	11,76 ± 0,44 (4)	10,27 ± 0,27 [•] (6)	11,28 ± 0,26 (4)	10,98 ± 0,27 (6)	11,86 ± 0,34 (4)	11,95 ± 0,39 (6)	10,74 ± 0,63 (4)
E-/PVAT+	9,78 ± 0,23 [■] (9)	12,02 ± 0,22* (9)	9,83 ± 0,40 (9)	9,81 ± 0,40 ^Ω (9)	9,67 ± 0,43 (8)	9,99 ± 0,32 ^Ω (8)	9,56 ± 0,41 [■] (8)	10,50 ± 0,50 (8)

Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; *vs. SO; [•]vs. E+/PVAT-, [■]vs. E-/PVAT-, ^Ωvs. Respectiva condição na ausência do antagonista.

Tabela 5 –pD2. Valores de pD2 nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença dos antagonistas dos receptores AT1 (Losartana). AT2 (PD123319) e MAS (A779), 12 semanas pós-IM (IC) ou da cirurgia fictícia (SO)

CONDIÇÃO	pD2							
	CONTROLE		LOSARTANA		PD123319		A779	
	SO	IC	SO	IC	SO	IC	SO	IC
E+/PVAT-	6,56 ± 0,09 (10)	7,23 ± 0,11*	6,44 ± 0,06 (7)	7,31 ± 0,08 (7)	6,74 ± 0,14 (6)	6,59 ± 0,24 (7)	6,59 ± 0,15 (6)	7,27 ± 0,09 (7)
E+/PVAT+	6,18 ± 0,10 (10)	7,00 ± 0,08*	6,09 ± 0,18 (5)	6,59 ± 0,08 (8)	6,15 ± 0,16 [•] (6)	6,84 ± 0,15 [•] (6)	6,14 ± 0,20 (6)	6,67 ± 0,14 (8)
E-/PVAT-	7,52 ± 0,20 [•] (6)	7,20 ± 0,09 (4)	7,49 ± 0,15 [•] (6)	7,36 ± 0,08 (4)	7,48 ± 0,05 [•] (6)	7,41 ± 0,04 (4)	7,60 ± 0,04 (6)	7,28 ± 0,07 (4)
E-/PVAT+	7,10 ± 0,18 (9)	7,38 ± 0,14 (9)	7,21 ± 0,17 (9)	7,19 ± 0,17 (9)	7,05 ± 0,19 (8)	7,38 ± 0,19 (8)	7,12 ± 0,20 (8)	7,42 ± 0,15 (8)

Abreviações: pD2: -log EC50. Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; *vs. SO; [•]vs. E+/PVAT-, [■]vs. E-/PVAT-, ^Ωvs. respectiva condição na ausência do antagonista

4.1.5. Avaliação das EROs na aorta torácica e no PVAT dos animais SO e IC

Como evidenciado na figura 8, a intensidade de fluorescência foi maior tanto na aorta torácica (Figura 8 A) quanto no PVAT (Figura 8 B) dos animais com IC comparada aos animais SO.

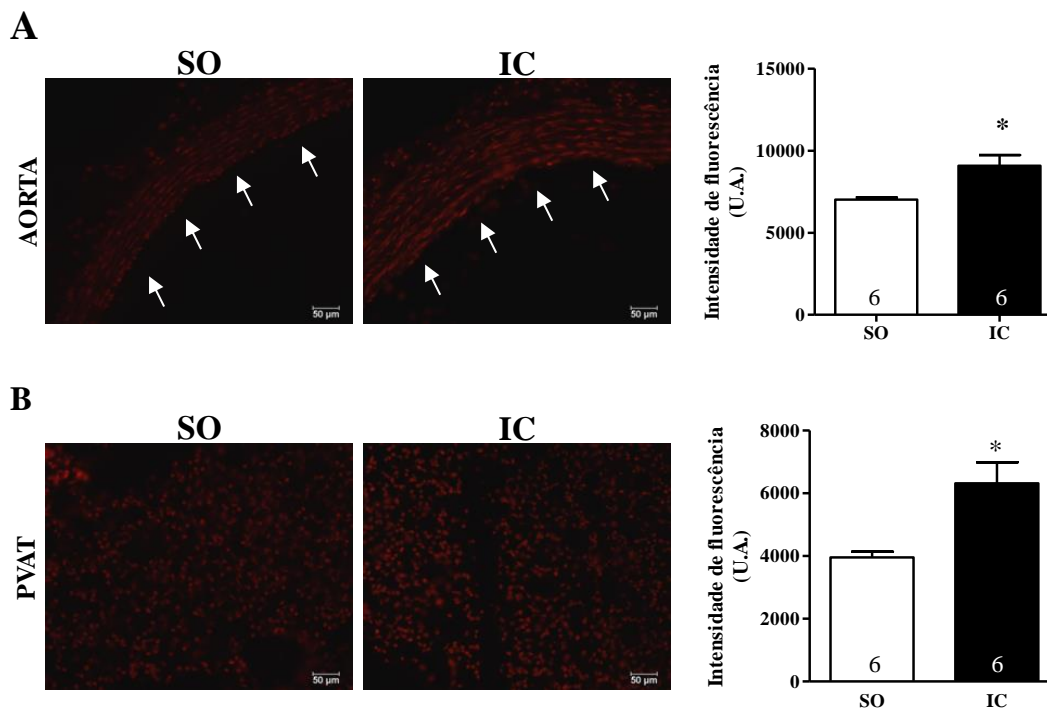


Figura 8. Imagens representativas dos cortes transversais da aorta torácica (A) e PVAT (B) dos animais falso-operados (SO) e com insuficiência cardíaca (IC). Os cortes foram incubados com dihidroetidina (DHE, 2 μ M), a qual, na presença de espécies reativas, é oxidada dando origem a produtos fluorescentes que possuem afinidade pelo DNA nuclear. A barra da escala representa 50 μ m. Os gráficos representam a quantificação da intensidade de fluorescência emitida pelos produtos da oxidação da DHE na aorta (A) e no PVAT (B) dos animais SO e IC. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo Teste-t: * $p < 0,05$ vs. SO.

4.1.6. Avaliação da modulação nitrérgica mediada pelo endotélio e pelo PVAT na resposta contrátil induzida pela fenilefrina na aorta torácica de animais SO e IC

A incubação com L-NAME aumentou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis E+/PVAT- e E+/PVAT+ de ambos os grupos (Figura 9). No entanto, no grupo SO a magnitude do aumento da Rmax e pD2, induzido pelo L-NAME, foi maior nos anéis E+/PVAT+ quando comparada à observada nos anéis E+/PVAT- (Tabela 6). Por sua vez, quando comparado o efeito da inibição da síntese de NO (NOS) nos anéis E+/PVAT- e

E+/PVAT+ dos IC, ele foi de mesma magnitude dentro do grupo (comparar as Figuras 9 C, D e Tabela 6), e, significativamente reduzido quando comparado aos anéis dos animais SO (Figura 9 e Tabela 6). Nos anéis dos animais IC, a presença do L-NAME aumentou apenas a pD₂, sem modificar a R_{max} (Figura 9 e Tabela 6).

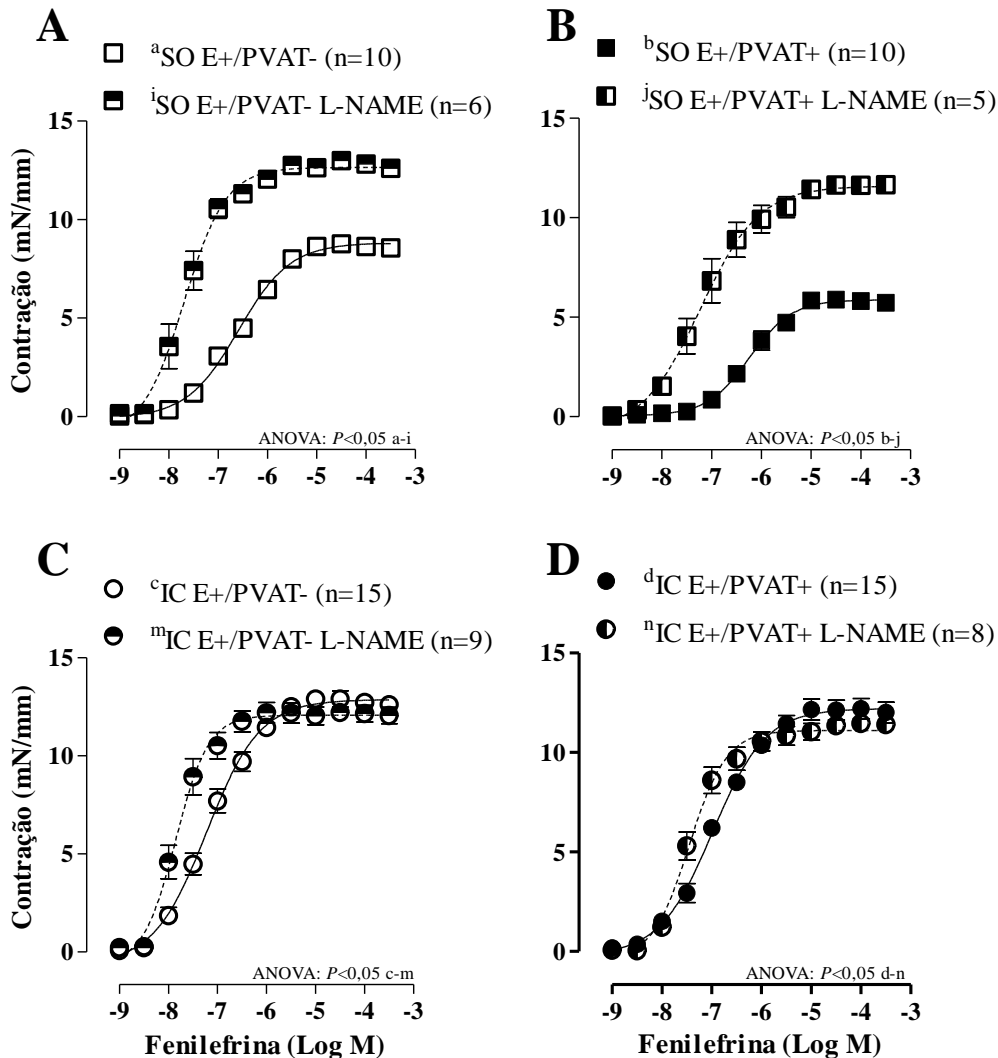


Figura 9. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica com endotélio (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais falso-operados (SO) (A e B) e com insuficiência cardíaca (IC) (C e D). Em alguns destes anéis, a curva concentração-resposta à fenilefrina foi realizada na presença do inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico (L-NAME, 100 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

Tabela 6 – Resposta máxima e pD₂. Valores de resposta máxima e pD₂ nos anéis em diferentes condições na ausência e na presença do inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico (L-NAME), 12 semanas pós-IM (IC) ou da cirurgia fictícia (SO)

Condição/Grupo		Controle		Com L-NAME	
		SO	IC	SO	IC
Rmax (mN/mm)	E+/PVAT-	8,79 ± 0,28 (10)	12,85 ± 0,39*	12,57 ± 0,31 ^o _l	12,05 ± 0,45 (9)
	E+/PVAT+	5,91 ± 0,26 [•] (10)	12,20 ± 0,54*	11,72 ± 0,38 ^o _l	11,13 ± 0,37 (8)
pD2	E+/PVAT-	6,56 ± 0,09 (10)	7,23 ± 0,11*	7,69 ± 0,12 ^o _l	7,78 ± 0,10 ^o _l
	E+/PVAT+	6,18 ± 0,10 (10)	7,00 ± 0,08*	7,15 ± 0,25 ^o _l	7,44 ± 0,08 ^o _l

Abreviações: Rmax: resposta máxima; pD2: -log EC50. Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA de uma via, p<0,05; *vs. SO; [•]vs. E+/PVAT-; [■]vs. E-/PVAT-; ^ovs. respectiva condição na ausência do L-NAME.

4.2. Avaliação dos efeitos do treinamento físico combinado (aeróbio e resistido) sobre a disfunção vascular e do PVAT, em aorta torácica e abdominal, dos animais com IC

4.2.1. Caracterização do protocolo experimental e efetividade do treinamento físico combinado

Quatro semanas pós-cirurgia de oclusão da artéria coronária descendente anterior, os animais apresentaram redução significativa da FE (Figura 10 A) e aumento das concentrações plasmáticas do BNP (Figura 10 B) quando comparados aos animais SO. Ademais, os animais com IC também apresentaram redução na distância percorrida durante o teste de esforço da esteira (Figura 10 C) e na carga máxima levantada na escada (Figura 10 D) quando comparados aos animais SO.

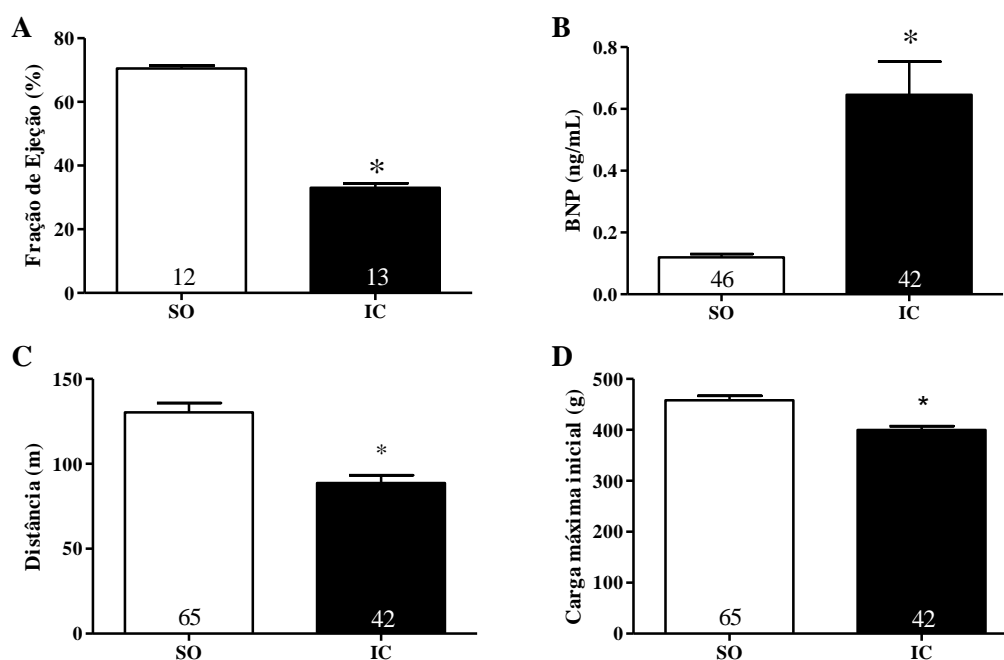


Figura 10. Fração de ejeção (A), concentração plasmática do BNP (B), distância atingida no teste de esforço (C) e carga máxima (D), 4 semanas após a cirurgia de oclusão da coronária descendente anterior nos animais dos grupos falso-operado (SO) e com insuficiência cardíaca (IC). Os resultados são expressos como média \pm EPM. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo teste *t* ($p < 0,05$; * vs. SO).

Por meio desses resultados, os animais foram randomicamente distribuídos em animais sedentários e treinados. Ao final das 8 semanas de treinamento físico ou sedentarismo, os animais treinados apresentam maior ganho na distância percorrida no teste da esteira (Figura 11 A) e da carga máxima levantada na escada (Figura 11 B), quando comparados aos animais sedentários. Contudo, apenas para o teste da carga

máxima levantada na escada os animais ICt apresentaram ganho inferior aos respectivos animais SOt.

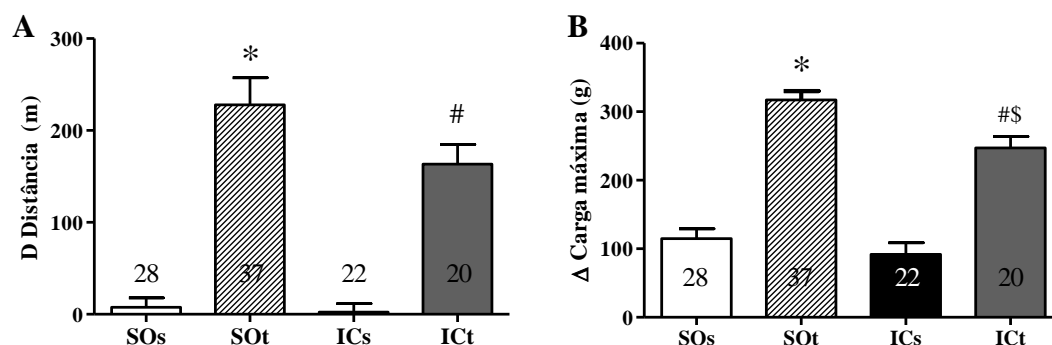


Figura 11. Ganho da distância percorrida na esteira (A) e na carga máxima levantada na escada (B) entre a semana 0 e a 8ª semana de treinamento ou sedentarismo. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento está nas barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA uma via para as diferenças entre os grupos. $p < 0,05$; *vs. SOs; #vs. ICs; \$vs. SOt.

4.2.2. Parâmetros hemodinâmicos e morfométricos

Hemodinamicamente, os animais ICs e ICt apresentaram redução significativa nos valores da pressão arterial sistólica (PAS), pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) e das derivadas temporais positiva e negativa da pressão ventricular ($dP/dt+$ e $dP/dt-$), assim como aumento nos valores da pressão arterial diastólica (PAD) e de pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE), quando comparados aos SOs e SOt (Tabela 7). Já os valores de frequência cardíaca (FC) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 7). O treinamento físico combinado foi capaz de reduzir, sem restaurar, apenas os valores da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDfVE) do grupo IC (Tabela 7).

Não houve diferença significativa na área de cicatriz do VE para os animais ICs e ICt (Tabela 8), assim como não foram observadas diferenças significativas entre o peso corporal e o comprimento da tíbia entre os diferentes grupos (Tabela 8).

Os animais ICs e ICt apresentaram aumento significativo da razão do peso do ventrículo direito e do pulmão normalizados pelo comprimento da tíbia, e esses parâmetros não foram modificados significativamente pelo treinamento combinado (Tabela 8). Não foi encontrada diferença na razão do peso do VE normalizado pelo comprimento da tíbia entre os grupos, apesar da significativa área de necrose nos animais com IC (Tabela 8).

Tabela 7: **Parâmetros hemodinâmicos.** Parâmetros hemodinâmicos arteriais e do ventrículo esquerdo obtidos dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado

	SOs (28)	SOt (37)	ICs (22)	ICt (20)
PAS (mmHg)	128,38 ± 1,41	128,08 ± 1,55	112,91 ± 1,69*	109,89 ± 1,84*
PAD (mmHg)	69,03 ± 2,08	71,88 ± 1,63	77,03 ± 1,98*	75,54 ± 2,43*
FC (bpm)	346,47 ± 7,88	359,89 ± 6,24	346,58 ± 6,76	337,91 ± 7,07
PSVE (mmHg)	139,93 ± 1,90	143,05 ± 1,94	125,14 ± 2,10*	122,41 ± 2,61*
PDfVE (mmHg)	6,13 ± 0,37	5,88 ± 0,22	18,28 ± 2,36*	11,95 ± 1,14* [#]
dP/dt+ (mmHg/s)	7294 ± 254,36	7586 ± 268,71	5397 ± 267,00*	5480 ± 301,38*
dP/dt- (mmHg/s)	-4645 ± 148,98	-4744 ± 135,84	-3803 ± 183,24*	-3994 ± 201,78*

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PSVE, pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDfVE, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt+, derivada de pressão do ventrículo esquerdo em função do tempo positiva; dP/dt-, derivada de pressão do ventrículo esquerdo em função do tempo negativa. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se entre parêntesis. Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA duas via, p<0,05; *vs. SO; [#]vs.ICs.

Tabela 8: Parâmetros morfométricos. Parâmetros morfométricos obtidos dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado

	SOs (28)	SOt (37)	ICs (22)	ICt (20)
Área de IM (%)	-	-	34,95 ± 0,97	34,07 ± 0,74
Peso Corporal (g)	477,4 ± 10,61	471,0 ± 9,54	458,0 ± 25,11	458,7 ± 11,80
Tíbia (mm)	41,89 ± 0,20	41,68 ± 0,17	41,73 ± 0,40	41,74 ± 0,27
Pulmão/ tíbia (mg/mm)	46,06 ± 1,7	47,26 ± 1,86	90,20 ± 4,48*	85,72 ± 3,55*
VD/tíbia (mg/mm)	5,34 ± 0,14	5,31 ± 0,16	12,69 ± 0,83*	11,26 ± 0,63*
VE/ tíbia (mg/mm)	19,24 ± 0,40	19,51 ± 0,40	19,55 ± 0,61	19,61 ± 0,41

Abreviações: VD: peso do ventrículo direito; VE: peso do ventrículo esquerdo com o septo; Pulmão: peso do pulmão. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se entre parêntesis. Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO.

4.2.3. Avaliação da reatividade vascular e do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado

Experimentos de reatividade vascular em resposta ao KCl foram realizados em anéis da aorta torácica e abdominal. O aumento da concentração extracelular de KCl induziu contração nos anéis de ambas as artérias, em todos os grupos e nas diferentes condições experimentais (Tabela 9). A resposta máxima produzida pelo KCl foi de maior magnitude na aorta abdominal, quando comparada à aorta torácica dos animais SO; contudo, numa mesma artéria não foram observadas diferenças significativas nem entre os grupos nem entre a presença ou ausência do endotélio e/ou do PVAT (Tabela 9).

Posteriormente, foram realizados os experimentos de reatividade vascular em resposta à fenilefrina, a qual promoveu contração dependente da concentração em ambas as artérias e nas diferentes condições experimentais (Figura 12). De forma similar ao dado obtido na contração induzida pelo KCl, os anéis da aorta abdominal, em ambas as condições (E+/PVAT₋ e E+/PVAT₊), apresentaram maior resposta contrátil à fenilefrina quando comparados aos anéis na mesma condição da aorta torácica (Figura 12 e Tabela 10).

Como já descrito na primeira parte deste trabalho, a resposta contrátil à fenilefrina foi de maior magnitude nos anéis E+/PVAT₋ de aorta torácica dos animais ICs quando comparada à observada nos anéis dos SOs, como pode ser visto pela comparação da R_{max} à fenilefrina (Figura 12 A e Tabela 10). Além disso, o protocolo de treinamento físico combinado não foi capaz de alterar a contração mediada pela fenilefrina nos anéis com endotélio intacto de aorta torácica nem nos animais SO, nem com IC (Figura 12 A e Tabela 10).

Tal qual foi demonstrado anteriormente, o PVAT da aorta torácica promoveu redução da resposta contrátil (R_{max} e pD₂) nos anéis com endotélio dos animais SOs (Figura 12 B e Tabela 10), contudo o efeito anticontrátil do PVAT foi abolido nos anéis da aorta torácica dos animais com ICs (Figura 12 B e Tabela 10). Os anéis dos ICt na presença do PVAT (E+/PVAT₊) apresentaram redução da R_{max}, quando comparados aos anéis dos ICs; já os anéis dos animais SOt a resposta contrátil foi de magnitude similar aos anéis dos SOs (Figura 12 B e Tabela 10). O protocolo de treinamento combinado reduziu parcialmente, mas não restaurou o prejuízo na função anticontrátil do PVAT observado nos animais com IC, redução essa observada tanto na R_{max} quanto na pD₂ (Figura 12 B e Tabela 10).

Na aorta abdominal, a IC promoveu aumento apenas da pD2 nos anéis E+/PVAT-, quando comparada aos SOs (Figura 12 C e Tabela 10). De forma interessante, o treinamento combinado foi capaz de restaurar esse dano vascular, reduzindo a resposta contrátil nos anéis dos animais ICt (Figura 12 C e Tabela 10). Por outro lado, nos anéis dos animais SOt o treinamento combinado não alterou a resposta contrátil à fenilefrina, quando comparado aos SOs em nenhuma das condições (Figura 12 C e Tabela 10). Diferente do que observamos na aorta torácica, na aorta abdominal a presença do PVAT não reduziu resposta contrátil à fenilefrina em nenhum dos grupos, quando comparados os anéis E+/PVAT- com os E+/PVAT+ (comparar Figuras 12 C e D e Tabela 10).

Tabela 9 – Contração ao KCl. Valores de resposta máxima obtidos nos anéis da aorta torácica e abdominal dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-IM sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado

Artéria/condição	TORÁCICA				ABDOMINAL			
	SOs	SOt	ICs	ICt	SOs	SOt	ICs	ICt
E+/PVAT- (mN/mm)	8,48 ± 0,44 (17)	8,82 ± 0,24 (17)	9,56 ± 0,55 (11)	8,77 ± 0,43 (9)	9,82 ± 0,36 [@] (20)	10,23 ± 0,56 (16)	11,73 ± 1,23 (11)	9,68 ± 0,45 (9)
E+/PVAT+ (mN/mm)	8,30 ± 0,39 (18)	8,93 ± 0,30 (19)	9,02 ± 0,32 (12)	8,92 ± 0,58 (10)	10,62 ± 0,37 [@] (18)	11,54 ± 0,75 (17)	10,24 ± 0,59 (11)	9,64 ± 0,46 (10)
E-/PVAT- (mN/mm)	8,56 ± 0,23 (11)	8,38 ± 0,42 (11)	10,44 ± 0,53 (9)	8,71 ± 0,56 (8)	10,87 ± 0,29 [@] (14)	10,21 ± 0,30 (11)	11,00 ± 0,57 (9)	10,68 ± 0,80 (9)
E-/PVAT+ (mN/mm)	8,78 ± 0,56 (15)	8,62 ± 0,48 (15)	9,55 ± 0,52 (11)	8,63 ± 0,53 (8)	10,02 ± 0,34 [@] (12)	9,91 ± 0,76 (12)	11,81 ± 1,62 (9)	10,64 ± 0,40 (9)

Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; [@]vs. torácica.

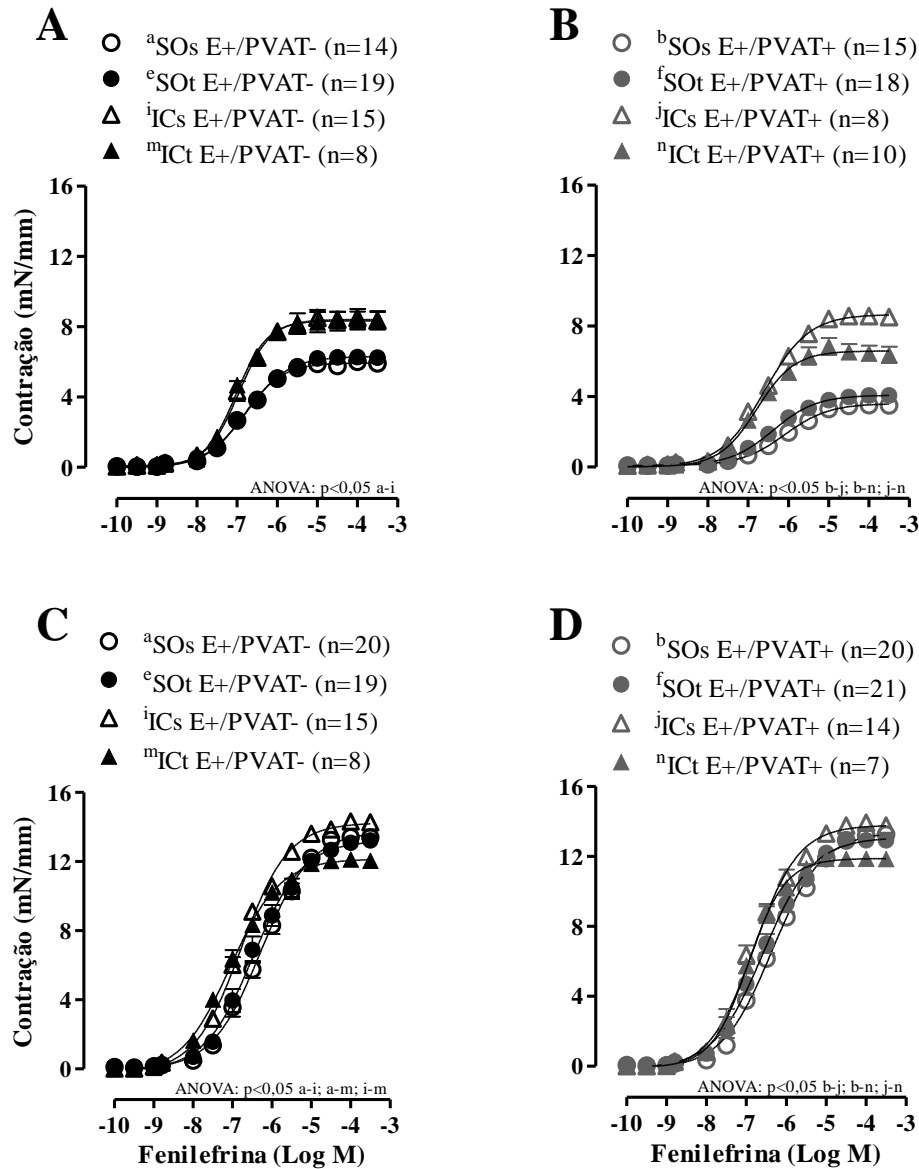


Figura 12. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica (A e B) e abdominal (C e D) com endotélio (E+), na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-) provenientes de animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-IM sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias p<0,05.

Tabela 10. **Resposta máxima e pD2.** Valores de resposta máxima e pD2 obtidos nos anéis da aorta torácica e abdominal dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado.

Condição/grupo		TORÁCICA				ABDOMINAL			
		SOs	SOt	ICs	ICt	SOs	SOt	ICs	ICt
Rmax (mN/mm)	E+/PVAT-	6,00 ± 0,15 (14)	6,37 ± 0,17 (17)	8,41 ± 0,45*	8,33 ± 0,51*	13,71 ± 0,25 [@] (20)	13,20 ± 0,25 [@] (19)	14,28 ± 0,23 [@] (15)	12,18 ± 0,25* ^{#@} (8)
	E+/PVAT +	3,69 ± 0,32 [•] (15)	4,19 ± 0,16 [•] (18)	8,67 ± 0,41* (8)	6,65 ± 0,42* [•] (10)	13,47 ± 0,29 [@] (20)	13,03 ± 0,18 [@] (21)	13,92 ± 0,28 [@] (14)	11,90 ± 0,17* ^{#@} (7)
	E+/PVAT-	6,80 ± 0,06 (14)	6,75 ± 0,09 (17)	6,98 ± 0,08 (8)	7,02 ± 0,03 (8)	6,75 ± 0,12 (19)	6,95 ± 0,13 (19)	7,27 ± 0,09* (15)	7,55 ± 0,10* (8)
pD2	E+/PVAT +	6,08 ± 0,10 [•] (15)	6,32 ± 0,11 [•] (18)	6,59 ± 0,07* [•] (8)	6,74 ± 0,11* (10)	6,87 ± 0,09 (18)	7,09 ± 0,11 (21)	7,30 ± 0,10* (14)	7,46 ± 0,08* (7)

Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; *vs. SO; [•]vs. E+/PVAT-, [■]vs. E-/PVAT-, [@]vs. Aorta torácica.

Na figura 13 nota-se que o peso do PVAT da aorta torácica não foi modificado pela ICs quando comparado ao SOs, contudo o treinamento combinado promoveu redução de 21% e 33% no PVAT dos animais SOt e ICt, respectivamente (Figura 13 A). Adicionalmente, a expressão gênica da UCP-1 encontrava-se reduzida no PVAT da aorta torácica dos ICs quando comparados aos SOs, e o treinamento combinado aumentou-a no grupo ICt (Figura 13 C).

Em contrapartida, na aorta abdominal não houve diferenças significativas entre o peso do PVAT entre os grupos (Figura 13 B), dado esse que corrobora com os dados funcionais apresentados acima (Figura 12 C e D e Tabela 10).

A partir dessas informações, os dados de aorta torácica e abdominal serão apresentados separadamente, visto que na aorta torácica foram investigados os efeitos observados no PVAT, já na aorta abdominal, na qual o PVAT não apresentava resposta significativa, foi avaliada a função endotelial.

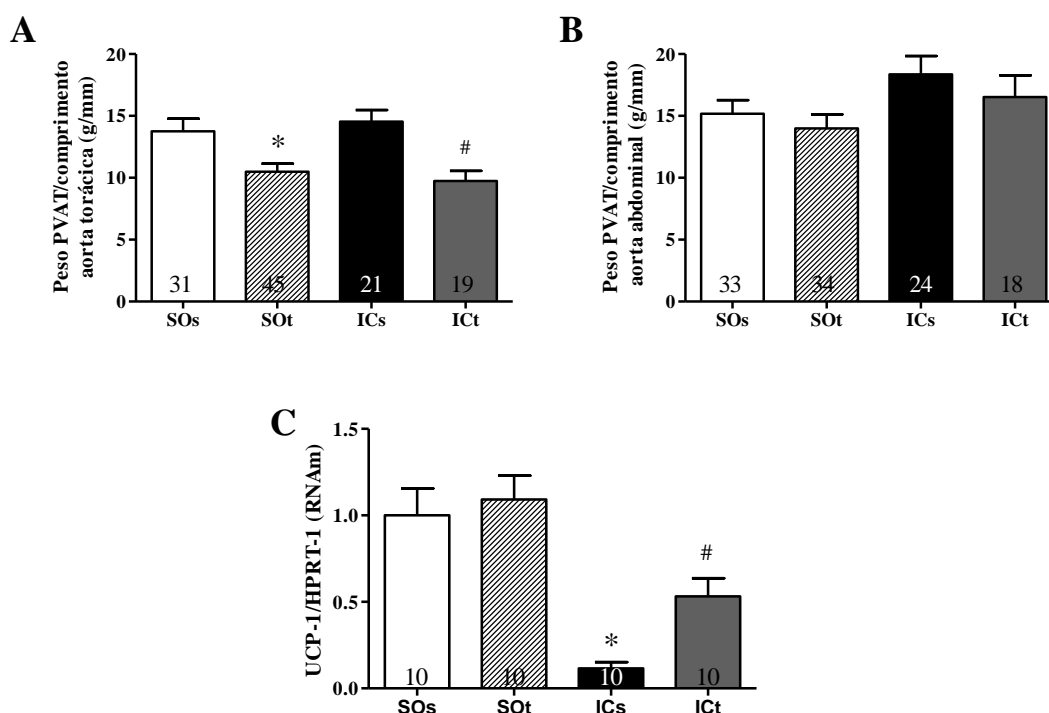


Figura 13. Peso do PVAT da aorta torácica (A) e abdominal (B) e expressão gênica da UCP-1 no PVAT da aorta torácica (C) dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O peso do PVAT foi normalizado pelo comprimento do anel da respectiva artéria e apresentado em g/mm, já os valores de expressão gênica são expressos como variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

4.2.4. Avaliação do efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado

Sabendo das alterações funcionais do PVAT da aorta torácica descritas acima, buscou-se avaliar a expressão de marcadores de diferentes tipos de tecido adiposo a fim de entender se a IC e o treinamento combinado estariam modificando a qualidade desse tecido.

Como pode ser observada na Figura 14, a expressão gênica do marcador para o tecido adiposo marrom, a PRDM-16 (Figura 14 A) e a expressão gênica do marcador para o tecido adiposo bege, o EPSTI-1 (Figura 14 B), foram reduzidas no PVAT da porção torácica da aorta dos animais ICs quando comparadas às observadas no PVAT dos animais SOs. Por outro lado, a expressão gênica para o marcador de tecido adiposo branco, o TCF-21, foi aumentada no PVAT da porção torácica da aorta dos animais ICs quando comparada à observada nos animais SOs (Figura 14 C). O treinamento combinado não modificou a expressão desses marcadores (PRDM-16, EPSTI-1 e TCF-21) no PVAT dos SOT quando comparado ao PVAT dos SOs (Figura 14). Já no PVAT dos animais ICt houve um aumento na expressão gênica do PRDM-16 e do EPSTI-1 e redução do TCF-21 (Figura 14).

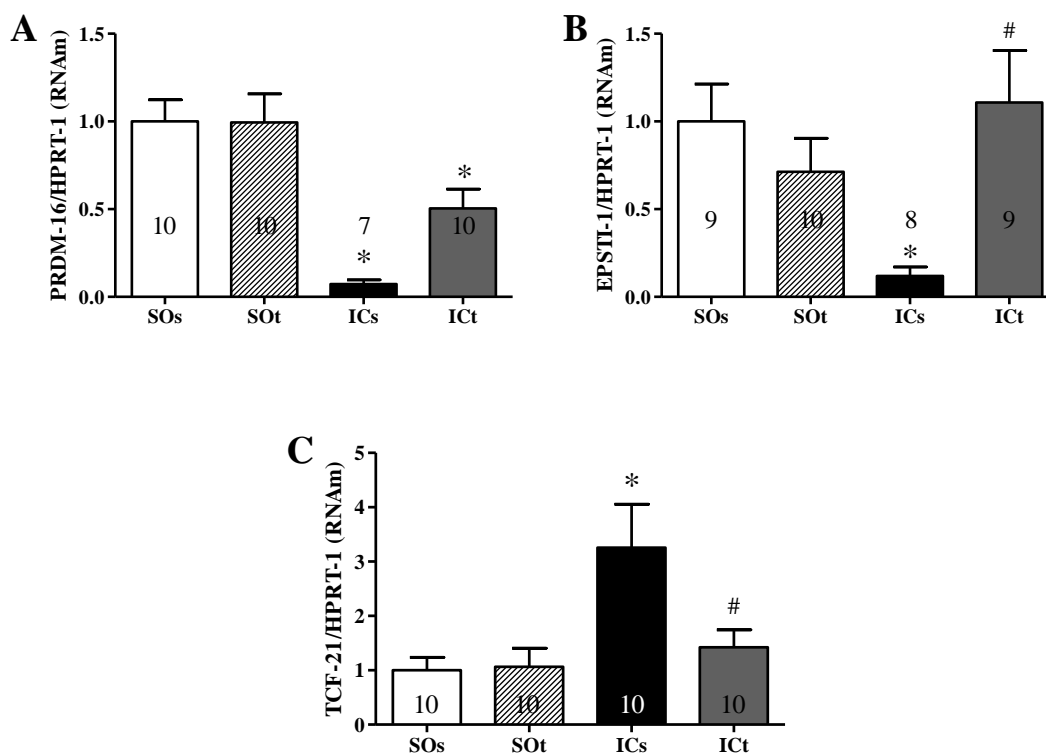


Figura 14. Expressão gênica de marcadores de tecido adiposos marrom (PRDM-16; A), bege (EPSTI-1; B) e branco (TCF-21; C) detectados no PVAT da aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOT) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e

treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se na figura. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

Como demonstrado na figura 2 (subprojeto 1), a IC promoveu tanto a disfunção endotelial quanto do PVAT. A fim de entender melhor essas respostas e o efeito do treinamento combinado, curvas concentrações respostas à fenilefrina foram obtidas em anéis com e sem endotélio na presença e na ausência do PVAT.

Quando o PVAT foi mantido nos anéis com endotélio funcional (E+), observou-se redução significativa da Rmax e da pD2 à fenilefrina nos anéis dos animais SOs (Figura 15 A e Tabela 11), e o treinamento combinado não modificou essa resposta (Figura 15 B e Tabela 11). Todavia, quando o PVAT foi mantido nos anéis dos animais com ICs, apenas uma pequena redução na pD2 foi observada (Figura 15 C e Tabela 11). Nos anéis da aorta torácica E+/PVAT+ dos animais ICt houve uma redução da Rmax quando comparados aos anéis dos ICs (Figura C e D e Tabela 11), contudo o treinamento combinado não alterou as demais condições dos anéis dos ICt (E+/PVAT-; E-/PVAT+ e E-/PVAT-) quando comparados aos anéis dos ICs (Figura G,H,K e L e Tabela 11). Apesar dessa melhora, os anéis da aorta torácica dos animais ICt ainda apresentavam prejuízo na função endotelial tanto na Rmax quanto na pD2 quando comparados aos animais SOs (comparar Figuras 15 E e H).

Nos anéis sem PVAT, quando o endotélio foi removido, houve aumento da resposta contrátil à fenilefrina em todos os grupos (Figuras 15 E, F, G e H), contudo esse aumento foi de maior magnitude nos animais SOs (94%) e SOt (71,4%), quando comparado aos animais ICs (38%) e ICt (34%) (Tabela 11). Além disso, o protocolo de treinamento combinado (Figura 15 D) não modificou o aumento da resposta contrátil à fenilefrina nem nos anéis dos animais SOt (Figura 15 F) nem nos anéis dos ICt (Figura 15 H).

Posteriormente, avaliou-se a função anticontrátil do PVAT na ausência do endotélio (E-/PVAT+). O PVAT reduziu a resposta contrátil à fenilefrina nos anéis sem endotélio em todos os grupos (Figuras 15 I, J, K e L). Porém, apenas os anéis dos animais SOs apresentaram redução significativa da resposta máxima e a pD2 (Tabela 11).

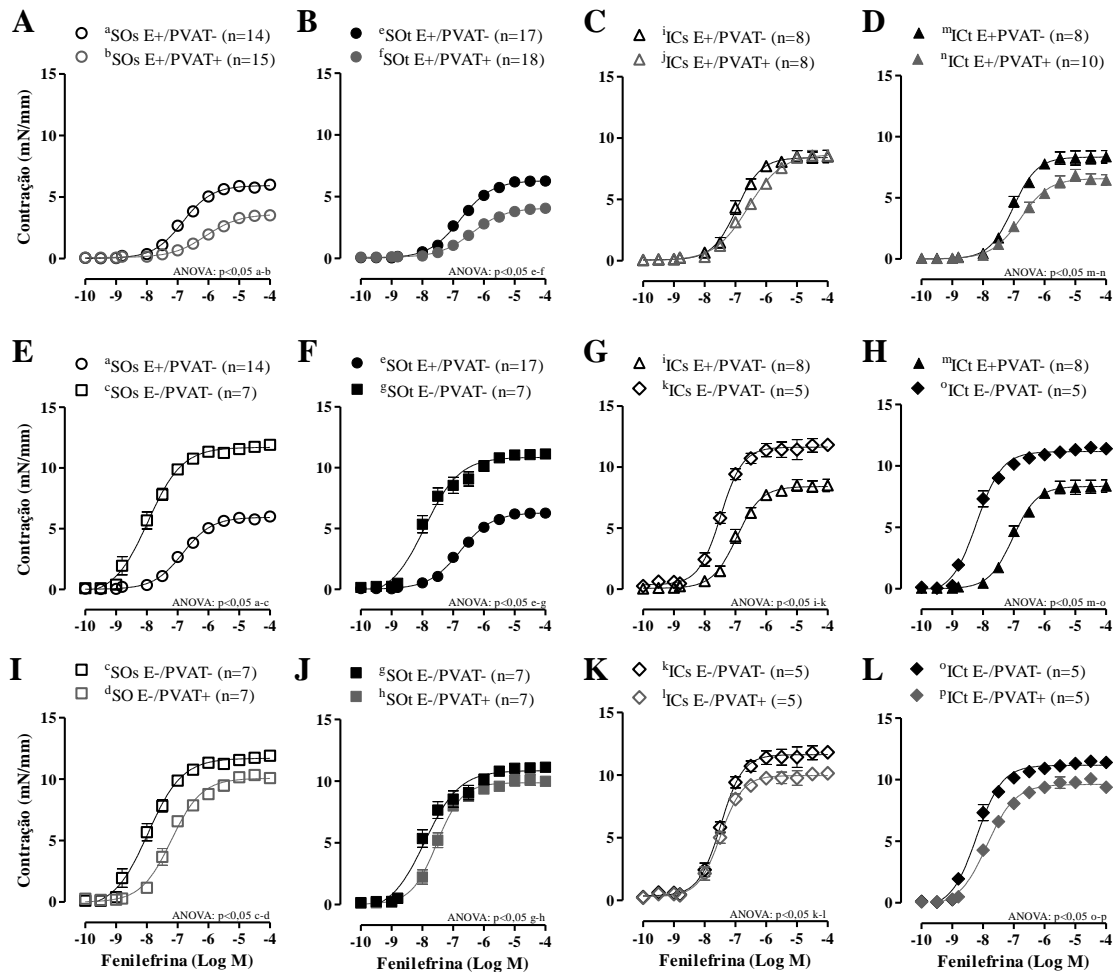


Figura 15. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs; A, E e I) e treinados (SOT; B, G e J) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs; C, G e K) e treinados (ICt; D, H e L) após 8 semanas de treinamento físico combinado, com (E+) e sem (E-) endotélio, na presença (PVAT+) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

O inibidor não seletivo da síntese de NO (L-NAME) foi utilizado para avaliar a influência nitrérgica na modulação do PVAT e no prejuízo observado nos anéis dos animais com IC.

O L-NAME aumentou a resposta contrátil à fenilefrina em todos os grupos e em todas as condições (E+/PVAT-; E+/PVAT+ e E-/PVAT+) (Figura 16). Contudo, esse aumento da resposta contrátil à fenilefrina promovido pelo L-NAME, nos anéis E+/PVAT-, foi superior nos anéis dos animais SOs (95%) e SOT (82%) quando comparado aos anéis dos animais ICs (41%) e ICt (30%) (Figuras 16 A, B, C e D e Tabela 11).

Nos anéis E+/PVAT+ a presença do L-NAME promoveu aumento superior da resposta contrátil à fenilefrina, quando comparado à condição E+/PVAT- nos anéis

dos animais SOs (203%) e SOt (193%) (comparar Figuras 16 A e B com 16 E e F). Adicionalmente a isso, a resposta nitrérgica estava prejudicada nos anéis E+/PVAT+ dos animais ICs (24%) quando comparada aos anéis SOs (Figura 16 G e E e Tabela 11) e apresentou melhora nos anéis dos animais IC que foram submetidos ao protocolo de treinamento combinado (75%) (Figura 16 H e Tabela 11).

Os anéis E-/PVAT- não apresentaram nenhuma alteração significativa na resposta contrátil à fenilefrina entre a ausência e a presença do L-NAME, em nenhum dos grupos ou condições (Figura 17 A, B, C e D e Tabela 11). Nos anéis E-/PVAT+ o L-NAME aumentou a resposta contrátil à fenilefrina nos anéis dos animais SOs e SOt (aumentando a R_{max} , sem alterar a pD_2) (Figura 17 E e F e Tabela 11), entretanto, nos anéis dos animais ICs esse efeito foi abolido (Figura 17 E e F e Tabela 11). Nos anéis dos animais ICt o L-NAME aumentou a resposta contrátil à fenilefrina, contudo essa diferença não foi significativa nem na R_{max} nem na pD_2 (Figura 17 E e F e Tabela 11).

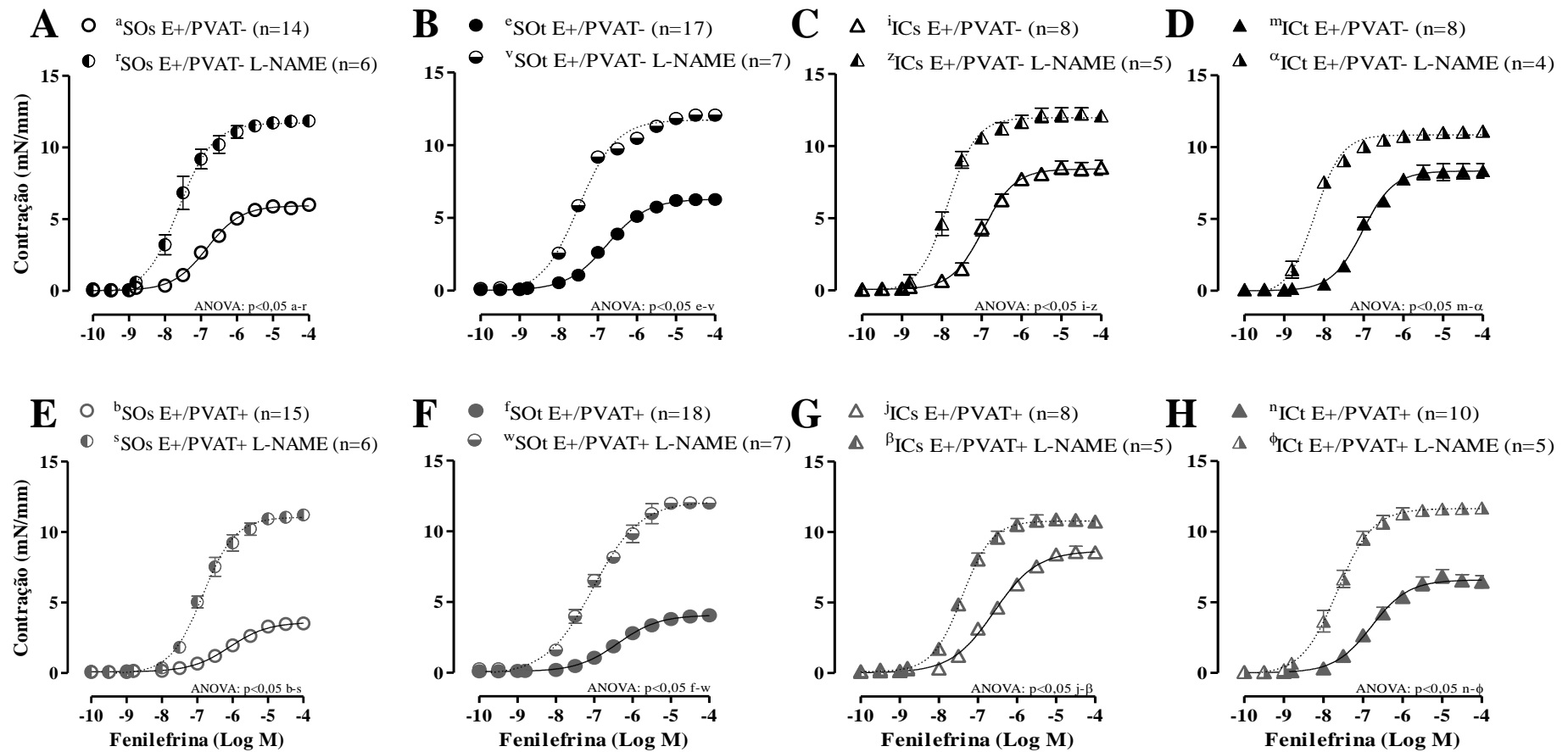


Figura 16. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs; A e E) e treinados (SOT; B e F) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs; C e G) e treinados (ICT D e H) após 8 semanas de treinamento físico combinado, com (E+) endotélio, na presença (PVAT+; A, B, C e D) e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-; E, F, G e H), em anéis com ou sem o inibidor não seletivo da síntese de óxido nítrico (L-NAME, 100 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

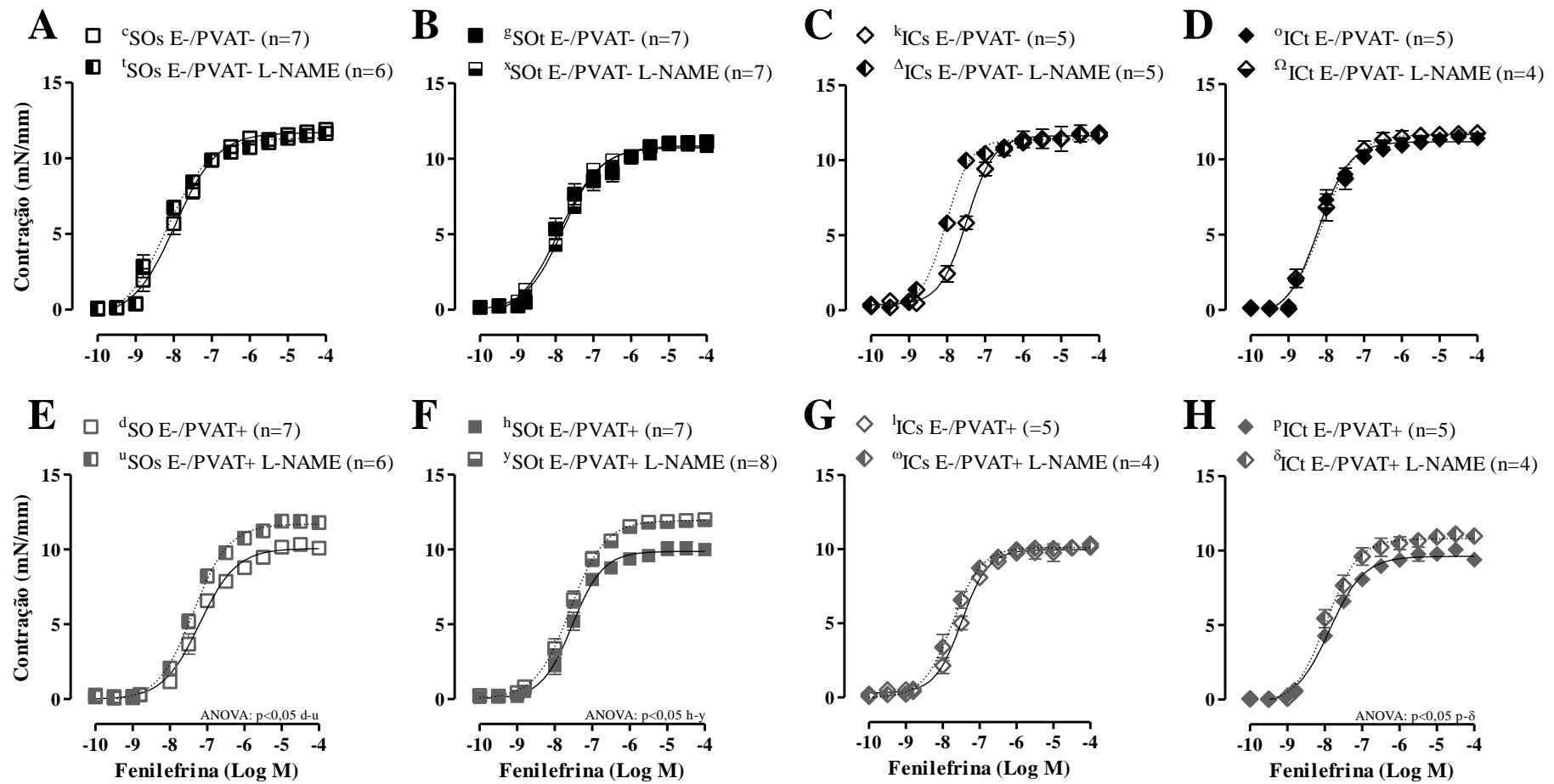


Figura 17. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs; A e E) e treinados (SOt; B e F) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs; C e G) e treinados (ICt D e H) após 8 semanas de treinamento físico combinado, sem (E-) endotélio, na ausência (PVAT-; A, B, C e D) e na presença do tecido adiposo perivascular (PVAT+; E, F, G e H), provenientes de animais SOs (A e E), SOt (B e F), ICs (C e G) e ICt (D e H) em anéis com ou sem o inibidor não seletivo da síntese de óxido nítrico (L-NAME, 100 μ M). Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

Tabela 11. Resposta máxima e pD2. Valores de resposta máxima e pD2 obtidos nos anéis da aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado, na ausência e na presença do inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico (L-NAME),

	Condição/grupo	CONTROLE				COM L-NAME			
		SOs	SOt	ICs	ICt	SOs	SOt	ICs	ICt
R _{max} (mN/mm)	E+/PVAT-	6,00 ± 0,15 (14)	6,37 ± 0,17 (17)	8,41 ± 0,45* (8)	8,33 ± 0,51* (8)	11,74 ± 0,19 ^{ql} (6)	11,63 ± 0,16 ^{ql} (7)	11,90 ± 0,39 ^{ql} (5)	10,87 ± 0,16 ^{ql} (4)
	E+/PVAT+	3,69 ± 0,32 [•] (15)	4,19 ± 0,16 [•] (18)	8,67 ± 0,41* (8)	6,65 ± 0,42* ^{#•} (10)	11,21 ± 0,25 ^{ql} (6)	12,29 ± 0,40 ^{ql} (7)	10,80 ± 0,26 ^{ql} (5)	11,63 ± 0,31 ^{ql} (5)
	E-/PVAT-	11,65 ± 0,23 [•] (7)	10,92 ± 0,25 [•] (7)	11,64 ± 0,51 [•] (5)	11,19 ± 0,11 [•] (5)	11,35 ± 0,25 (6)	10,70 ± 0,22 (6)	11,43 ± 0,30 (5)	11,65 ± 0,38 (4)
	E-/PVAT+	10,08 ± 0,15 [■] (7)	9,92 ± 0,35 (7)	9,97 ± 0,38 (5)	9,61 ± 0,24 (5)	11,70 ± 0,25 ^{ql} (6)	11,99 ± 0,16 ^{ql} (8)	10,08 ± 0,09 (4)	10,83 ± 0,30 (4)
pD ₂	E+/PVAT-	6,80 ± 0,06 (14)	6,75 ± 0,09 (17)	6,98 ± 0,08 (8)	7,02 ± 0,03 (8)	7,58 ± 0,15 ^{ql} (6)	7,51 ± 0,15 ^{ql} (7)	7,85 ± 0,08 ^{ql} (5)	8,22 ± 0,07 ^{ql} (4)
	E+/PVAT+	6,08 ± 0,10 [•] (15)	6,32 ± 0,11 [•] (18)	6,59 ± 0,07* [•] (8)	6,74 ± 0,11* (10)	6,79 ± 0,11 ^{ql} (6)	6,99 ± 0,12 ^{ql} (7)	7,39 ± 0,04 ^{ql} (5)	7,66 ± 0,08 ^{ql} (4)
	E-/PVAT-	7,99 ± 0,11 [•] (7)	7,89 ± 0,10 [•] (7)	7,49 ± 0,06* [•] (5)	8,19 ± 0,05 ^{#•} (5)	8,214 ± 0,05 (6)	7,8 ± 0,11 (6)	8,02 ± 0,06 (5)	8,07 ± 0,10 (4)
	E-/PVAT+	7,20 ± 0,09 [■] (7)	7,55 ± 0,09 (7)	7,49 ± 0,06 (5)	7,86 ± 0,04* [#] (4)	7,36 ± 0,05 (6)	7,62 ± 0,10 (8)	7,74 ± 0,13 (4)	7,94 ± 0,10 (4)

Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; *vs. SO; #vs. ICs; •vs. E+/PVAT-, ■vs. E-/PVAT-, ^{ql}vs. respectiva condição na ausência do inibidor.

Indo de encontro com os resultados funcionais, a expressão proteica da eNOS na aorta torácica dos animais ICs estava aumentada quando comparada aos SOs (Figura 18 A), e o treinamento combinado foi capaz de reverter esse aumento nos animais ICt para o nível observado no SOs (Figura 18 A). Por outro lado, a expressão proteica da eNOS não estava alterada no PVAT dos animais ICs; porém, o treinamento combinado aumentou a expressão dessa proteína no PVAT dos animais ICt, aumento esse superior aos valores obtidos no PVAT dos SOs (Figura 18 B). A expressão da AMPK α 1/2 estava reduzida no PVAT dos ICs quando comparada aos SOs e mais uma vez o treinamento combinado foi hábil em reverter esse prejuízo (Figura 18 C). O treinamento combinado não promoveu nenhuma alteração na expressão proteica da eNOS na aorta torácica e no PVAT e da AMPK α 1/2 dos animais SOt quando comparados aos seus respectivos SOs (Figuras 18 A, B e C).

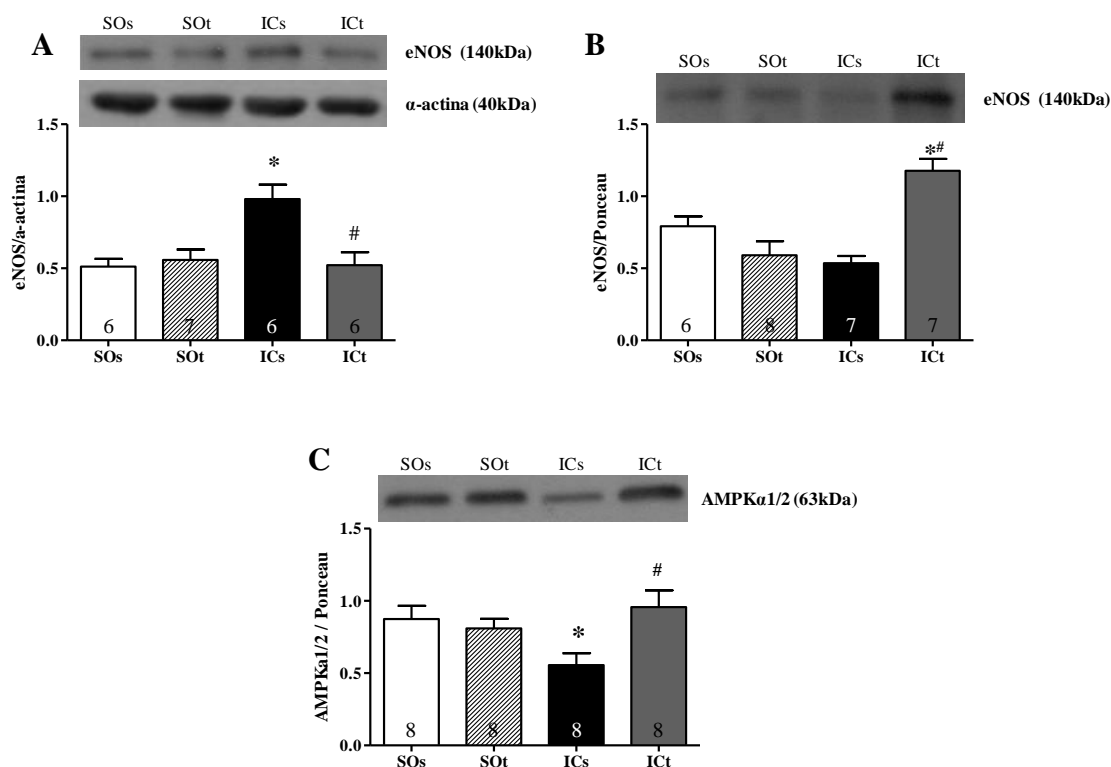


Figura 18. Expressão proteica da eNOS (A) na aorta torácica, e da eNOS (B) e da AMPK α 1/2 (C) no PVAT dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. A expressão proteica foi normalizada para o conteúdo de α -actina em cada amostra da aorta torácica e pelo Ponceau para cada amostra de PVAT. Os painéis acima das figuras mostram os blots típicos para cada proteína avaliada. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

A expressão gênica do receptor β 3-adrenérgico (β 3-AR) estava reduzida no PVAT dos animais com ICs quando comparados aos SOs (Figura 19 A), e o treinamento combinado não modificou significativamente essa variável nem nos SOt nem nos ICt (Figura 19 A). Indo de encontro aos dados da expressão proteica, a expressão gênica da eNOS estava reduzida no PVAT dos animais ICs e o treinamento combinado aumentou a expressão gênica dessa enzima (Figura 19 B). O treinamento combinado não foi efetivo em alterar a expressão gênica da eNOS no PVAT dos animais SOt (Figuras 19 B).

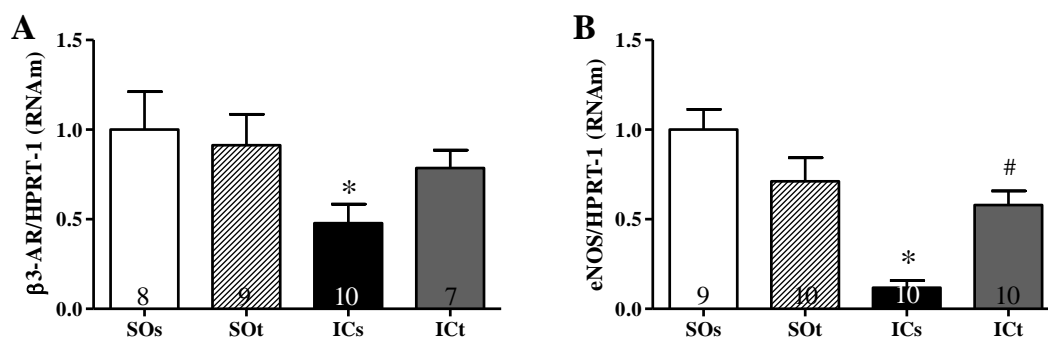


Figura 19. Expressão gênica do receptor β 3 adrenérgico (A) e da eNOS (B) no PVAT da aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. O gene HPRT-1 foi utilizado como controle endógeno para a normalização dos dados. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

Como observado na Figura 20, a concentração de adiponectina no PVAT dos animais ICs estava reduzida quando comparada aos SOs. Além disso, o treinamento combinado aumentou a concentração de adiponectina no PVAT do ICt sem modificar a mesma no SOt (Figura 20).

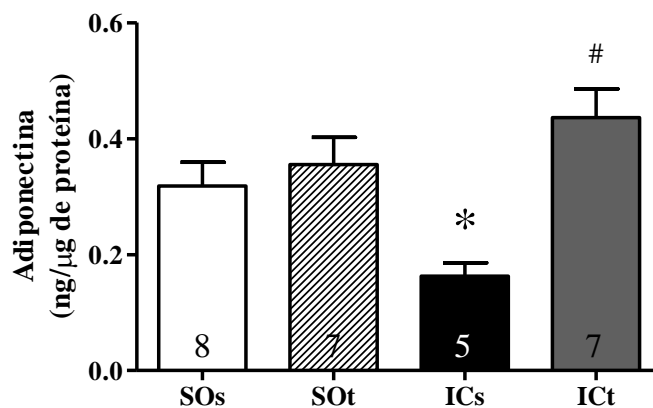


Figura 20. Concentração de adiponectina no PVAT da aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários

(ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

Por fim, avaliou-se a expressão gênica de alguns marcadores relacionados à inflamação no PVAT da aorta torácica. A expressão gênica dos marcadores pró-inflamatórios IL-6 (Figura 21 A), TNF- α (Figura 21 B) e MCP-1 (Figura 21 C) estavam aumentadas no PVAT dos animais ICs quando comparado aos animais SOs, e o treinamento combinado foi capaz de reverter esse aumento no PVAT dos ICt (Figura 21 A, B e C). De forma contrária se comportou a citocina anti-inflamatória IL-10, visto que no PVAT dos animais ICs observou-se redução significativa da sua expressão gênica e o treinamento combinado foi hábil em reverter esse prejuízo nos animais ICt (Figura 21 D). O protocolo de treinamento combinado utilizado no presente trabalho não modificou a expressão gênica de nenhum dos marcadores inflamatórios avaliados no PVA dos animais SOt (Figura 21 A, B e C).

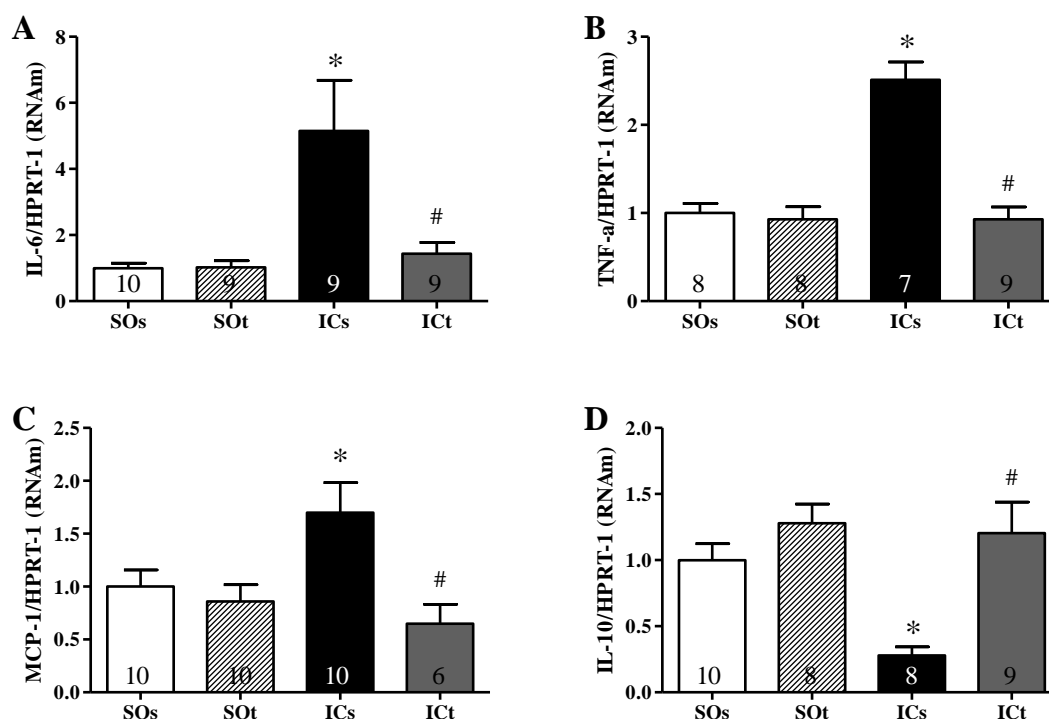


Figura 21. Expressão gênica da interleucina-6 (IL-6; A), do fator de necrose tumoral- α (TNF- α ; B), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1; C) e da interleucina-10 (IL-10; D) no PVAT da aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. O gene HPRT-1 foi utilizado como controle endógeno para a normalização dos dados. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

4.2.5. Avaliação da reatividade vascular da aorta abdominal de ratos com insuficiência cardíaca submetidos ao treinamento combinado

Corroborando com os dados iniciais, em que o PVAT da aorta abdominal não apresentava o efeito anticontrátil e a massa desse tecido não estava alterada nem pela IC nem pelo treinamento combinado (Figura 12 D e 13 B), observou-se que nenhuma das duas intervenções foi capaz de modificar a expressão gênica dos marcadores de tecido adiposo marrom, PRDM-16 (Figura 22 A), e do marcador de tecido adiposo branco, TCF-21 (Figura 22 C).

Por outro lado, quando analisada a expressão gênica do marcador do tecido adiposo bege, EPSTI-1 (Figura 22 B), houve uma redução dessa no PVAT da aorta abdominal do ICs quando comparada aos SOs, todavia essa redução não foi estatisticamente significativa. Já o treinamento combinado foi eficiente em reverter a redução da expressão do EPSTI-1 no PVAT dos ICt (Figura 22 B).

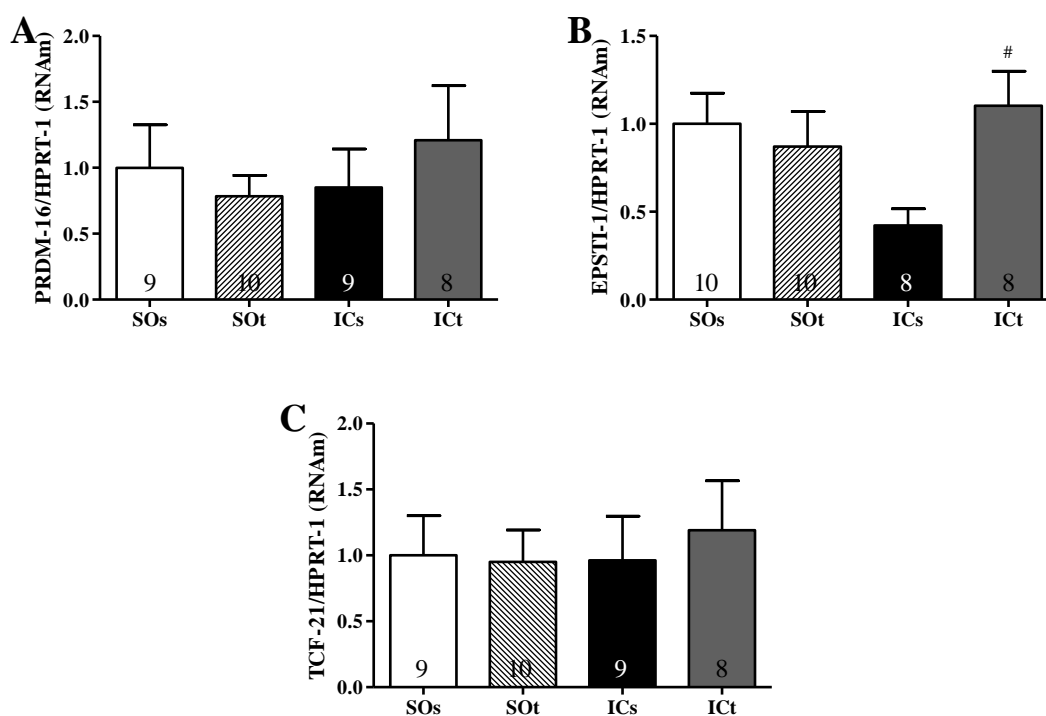


Figura 22. Expressão gênica de marcadores de tecido adiposos marrom (PRDM-16; A), bege (EPSTI-1; B) e branco (TCF-21; C) detectados no PVAT da aorta abdominal dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

A partir dos dados que demonstraram a ausência do efeito anticontrátil no PVAT da aorta abdominal, o presente estudo enfatizou o estudo da função endotelial sobre a resposta contrátil à fenilefrina dessa artéria. Dessa forma, todos os demais experimentos foram realizados na ausência do PVAT.

Como se observa na Figura 23, a fenilefrina foi hábil em promover contração dependente de concentração em todos os grupos e condições. Quando o endotélio foi removido houve aumento da resposta contrátil à fenilefrina em todos os grupos (Figura 23). Entretanto, na análise da R_{max} e da pD_2 , a remoção do endotélio foi capaz de aumentar apenas a pD_2 nos anéis de aorta abdominal dos SOs e SOt, sem nenhuma diferença nos anéis dos animais ICs (Tabela 12). De forma bastante interessante, o treinamento combinado foi capaz de reverter a habilidade do endotélio em reduzir a contração à fenilefrina nos anéis dos animais ICt (Figura 23 D). Essa melhora promovida pelo treinamento combinado nos anéis dos animais IC é reforçada pela diferença significativa na R_{max} entre os anéis E+/PVAT- e E-/PVAT- (Tabela 12).

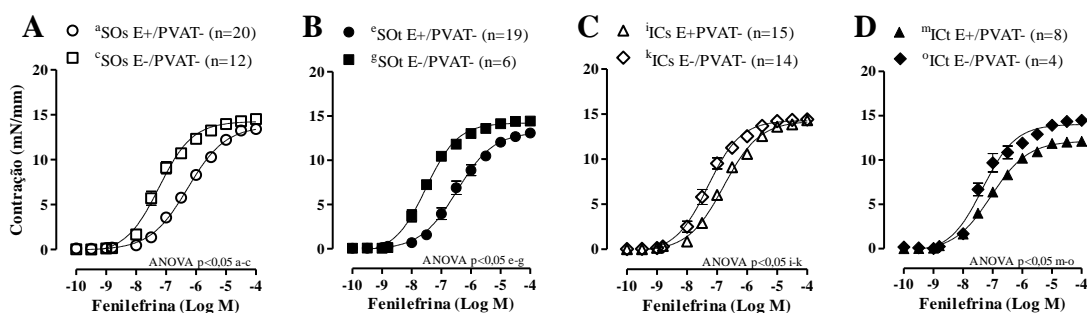


Figura 23. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta torácica dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs; A) e treinados (SOt; B) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs; C) e treinados (ICt D) após 8 semanas de treinamento físico combinado, com e sem (E-) e com endotélio (E-) na ausência do PVAT. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias $p < 0,05$.

A fim de avaliar a modulação nitrérgica na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina na aorta abdominal, curvas concentração resposta foram realizadas na presença do L-NAME.

Na presença do L-NAME, houve aumento da contração à fenilefrina em todos aos anéis E+/PVAT- (Figura 24 A, B, C e D). Contudo, os anéis da aorta abdominal dos animais ICs não apresentaram diferenças significativas nem na R_{max} nem na pD_2 , entre a condição com e sem L-NAME (Figura 24 C e Tabela 12). Nos anéis da aorta abdominal

dos animais ICt, o L-NAME aumentou a resposta contrátil à fenilefrina nos anéis E+/PVAT-, quando comparados aos anéis dos ICs (Figura 24 D e Tabela 12).

A presença do L-NAME, nos anéis E-/PVAT-, não alterou a resposta contrátil à fenilefrina (R_{max} e pD_2) em nenhum dos grupos (Figuras 24 E, F, G e H e Tabela 12).

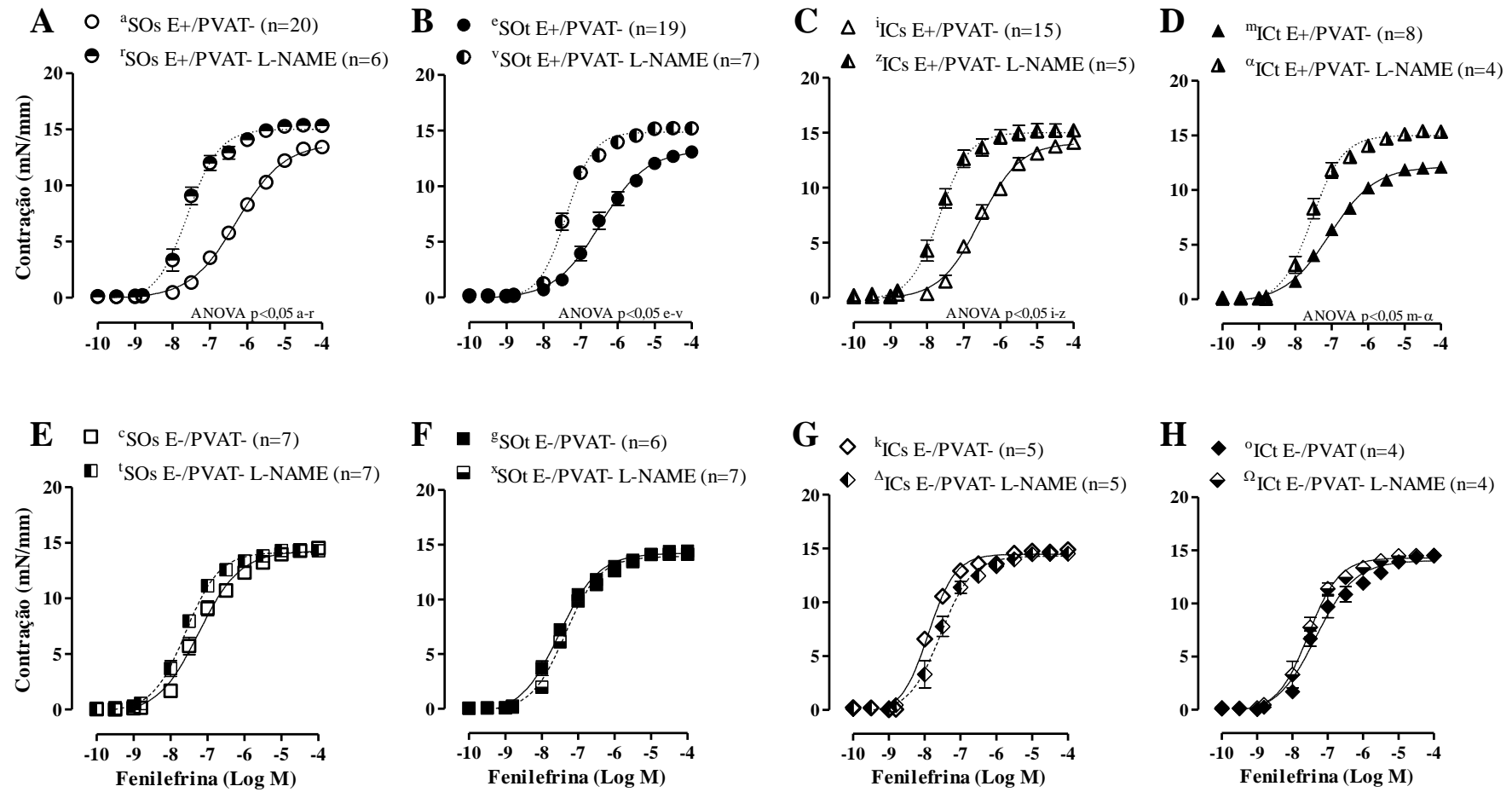


Figura 24. Curvas concentração-resposta à fenilefrina em anéis de aorta abdominal sem (E-) e com (E+) endotélio e na ausência do tecido adiposo perivascular (PVAT-), provenientes de animais SOs (A e E), SOt (B e F), ICs (C e G) e ICt (D e H) em anéis com ou sem o inibidor não seletivo da síntese de óxido nítrico (L-NAME, 100μM). Os resultados são expressos como média ± EPM. O número de animais utilizados em cada experimento (n) está entre parênteses. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias p<0,05.

Tabela 12. Resposta máxima e pD2. Valores de resposta máxima e pD2 obtidos nos anéis da aorta abdominal, dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado, com (E+/PVAT-) e sem endotélio (E-/PVAT-) na ausência e na presença do inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico (L-NAME)

Condição/grupo		CONTROLE				COM L-NAME			
		SOs	SOt	ICs	ICt	SOs	SOt	ICs	ICt
Rmax (mN/mm)	E+/PVAT-	13,71 ± 0,25	13,20 ± 0,25	14,28 ± 0,23	12,18 ± 0,25*#	15,08 ± 0,13 ^o	14,87 ± 0,37 ^o	15,02 ± 0,56	15,04 ± 0,43 ^o
		(20)	(19)	(15)	(8)	(6)	(7)	(5)	(4)
	E-/PVAT-	14,18 ± 0,19	14,23 ± 0,17	14,25 ± 0,20	14,17 ± 0,43 [•]	14,12 ± 0,16	14,06 ± 0,21	14,29 ± 0,15	14,13 ± 0,42
		(12)	(6)	(14)	(4)	(7)	(7)	(5)	(4)
pD2	E+/PVAT-	6,75 ± 0,11	6,95 ± 0,12	7,27 ± 0,08	7,55 ± 0,09	7,57 ± 0,11 ^o	7,38 ± 0,05	7,65 ± 0,08	7,53 ± 0,12
		(20)	(19)	(15)	(8)	(6)	(7)	(5)	(4)
	E-/PVAT-	7,74 ± 0,10 [•]	7,99 ± 0,07 [•]	7,82 ± 0,10	7,80 ± 0,15	7,60 ± 0,05	7,66 ± 0,06	7,57 ± 0,12	7,44 ± 0,05
		(12)	(6)	(14)	(4)	(7)	(7)	(5)	(4)

Resultados são expressos como média ± EPM. ANOVA uma via, p<0,05; *vs. SO; #vs. ICs; •vs. E+/PVAT-; ^ovs. respectiva condição na ausência do inibidor.

A IC aumentou a expressão da eNOS na aorta abdominal dos ICs quando comparada aos SOs (Figura 25). O treinamento combinado reduziu parcialmente a expressão proteica da eNOS na aorta abdominal dos ICt quando comparada aos ICs, sem modificar-se nos SO (Figura 25). Por outro lado, a expressão da eNOS na aorta abdominal dos SOt não foi alterada pelo treinamento combinado quando comparado aos SOs.

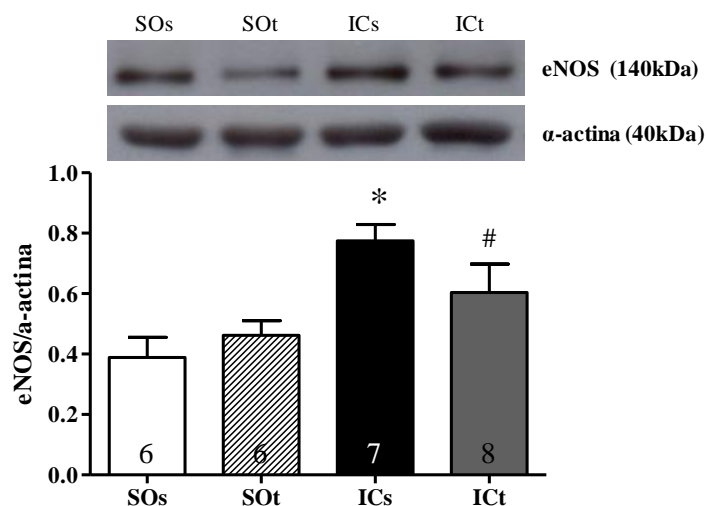


Figura 25. Expressão proteica da eNOS na aorta abdominal dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOt) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICt) após 8 semanas de treinamento físico combinado. A expressão proteica foi normalizada para o conteúdo de α -actina em cada amostra da aorta abdominal. O painel acima da figura mostra o blot típico para proteína avaliada. Os resultados são expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; *vs. SO; #vs. ICs.

Por fim, avaliou-se a expressão gênica dos marcadores inflamatórios no PVAT da aorta abdominal.

A Figura 26 A mostra o aumento na expressão gênica da interleucina-6 no PVAT da aorta abdominal dos animais ICs quando comparado aos SOs, sem alterações significativas promovidas pelo treinamento combinado. Nenhuma alteração significativa foi observada na expressão gênica do TNF- α (Figura 26 B) e da MCP-1 (Figura 26 C), nem promovida pela IC nem pelo protocolo de treinamento.

Quando se avaliou a interleucina-10, observou-se que a IC não alterou a expressão gênica dessa citocina no PVAT da aorta abdominal quando comparado aos SOs (Figura 26 D). Entretanto, de forma interessante, o treinamento combinado foi capaz de aumentar a expressão gênica dessa citocina anti-inflamatória tanto no grupo SOt quanto no ICt (Figura 26 D).

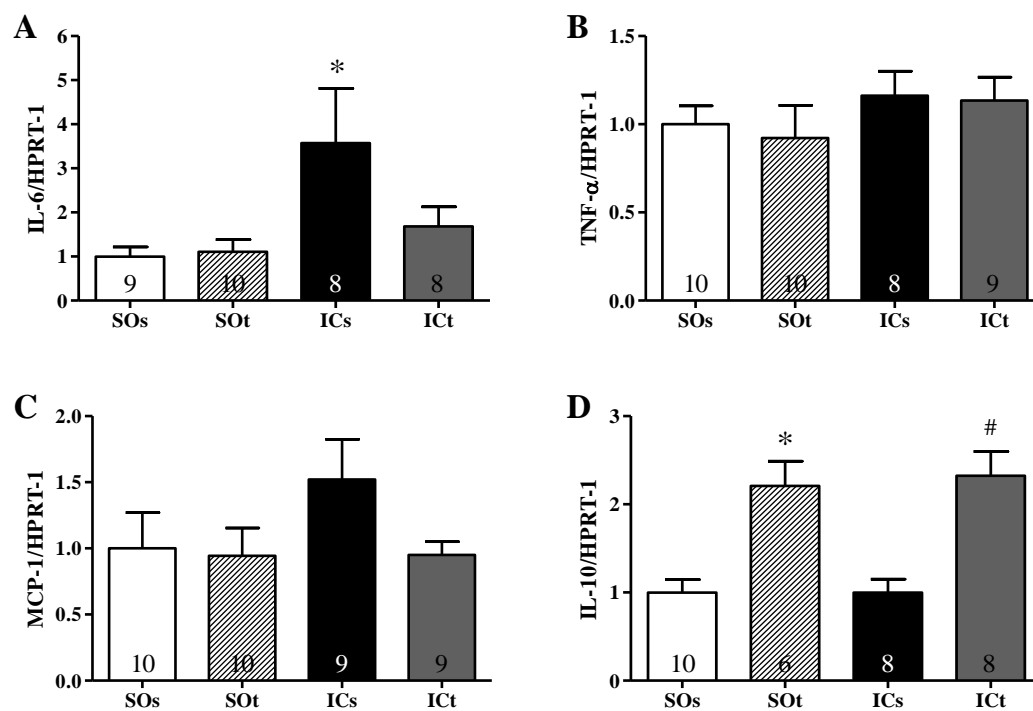


Figura 26. Expressão gênica da interleucina-6 (IL-6; A), do fator de necrose tumoral- α (TNF- α ; B), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1; C) e da interleucina-10 (IL-10; D) no PVAT da aorta abdominal dos animais dos grupos cirurgia fictícia sedentários (SOs) e treinados (SOT) e insuficientes cardíacos pós-infarto do miocárdio sedentários (ICs) e treinados (ICT) após 8 semanas de treinamento físico combinado. O gene HPRT-1 foi utilizado como controle endógeno para a normalização dos dados. Os resultados são expressos como média \pm EPM da variação em relação aos valores obtidos nos animais SOs. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA duas vias, $p < 0,05$; **vs.* SO; #*vs.* ICs.

5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo trazem duas informações importantes: 1) demonstrou-se pela primeira vez que o efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica está prejudicado em rato com IC e que o SRAA está envolvido nesse prejuízo e 2) o treinamento combinado foi capaz de reverter parcialmente o prejuízo na função anticontrátil do PVAT da aorta torácica e prejuízo da função endotelial causado pela IC na aorta abdominal.

A discussão do presente estudo, assim como a apresentação dos resultados, será dividida a partir dos dois objetivos principais do trabalho.

5.1. Avaliação do sistema renina angiotensina no prejuízo do afeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica dos ratos com IC

Após 12 semanas da cirurgia de indução do infarto do miocárdio, os animais apresentaram danos funcionais ao coração, como aumento da PDfVE e redução da dP/dt+ e dP/dt-, além da hipertrofia do ventrículo direito e congestão pulmonar. Esses resultados, em conjunto, corroboram com a presença da disfunção ventricular característica da IC já demonstrada por estudos anteriores utilizando o mesmo modelo experimental (COUTO et al., 2018; COUTO et al., 2015; MILL et al., 1990; PFEFFER et al., 1979). Além das alterações cardíacas, a IC também é caracterizada por alterações funcionais nos vasos sanguíneos, tais como: aumento no tônus vasomotor basal e redução nas respostas vasodilatadoras dependentes e independentes do endotélio (COUTO et al., 2015; GSCHWEND et al., 2003; LEDOUX; GEE; LEBLANC, 2003; NAKAMURA et al., 2001; BAUERSACHS, et al., 1999).

Ao avaliar a resposta contrátil à fenilefrina em anéis de aorta torácica, observou-se que os animais com IC apresentavam hiperreatividade à fenilefrina, quando comparadas as aortas dos animais SO. Adicionalmente, quando o endotélio foi removido, os anéis dos animais IC apresentaram um discreto aumento na resposta contrátil, caracterizando, assim, a aorta torácica dos animais com IC com disfunção endotelial. Estudos anteriores utilizando esse mesmo modelo experimental já demonstraram que a aorta de animais com IC encontra-se disfuncional (BAUERSACHS et al., 2002; BAUERSACHS, et al., 1999), assim como outros leitos vasculares (COUTO e al, 2018;

COUTO et al., 2015; PEREIRA et al., 2005; CHONG et al., 2004; TEERLINK et al., 1993).

Os vasos sanguíneos são formados basicamente por três camadas: a túnica adventícia, a túnica média e túnica íntima, as quais participam de alguma forma da regulação da vasomotricidade (FREED; GUTTERMAN, 2017; SHEPHERD; VANHOUTTE, 1979).

A túnica íntima é formada pelas células endoteliais, que, inicialmente, foram consideradas apenas uma barreira que separava o sangue das células do músculo liso vascular, tendo apenas a função de conferir permeabilidade seletiva à água e aos eletrólitos (FLAMMER; LÜSCHER et al., 2010; BUSSE; FLEMING, 2003; FELETOU; VANHOUTTE et al., 1980). Contudo, hoje se sabe que, além de uma barreira física, o endotélio é fonte de uma variedade de substâncias reguladora da função vascular (FLAMMER; LÜSCHER et al., 2010; BUSSE; FLEMING, 2003; FELETOU; VANHOUTTE et al., 1980).

Mais recentemente o PVAT foi adicionado como mais uma camada dos vasos sanguíneos, a partir do trabalho de Soltis e Cassis (1991), que demonstraram que o PVAT era capaz de influenciar a responsividade vascular. Esses autores, utilizando aorta torácica de ratos, demonstram que os anéis em que o PVAT foi mantido apresentaram uma redução significativa da sensibilidade a noradrenalina (SOLTIS; CASSIS, 1991). Todavia, esse estudo demonstrou que a redução da resposta contratátil possivelmente era causada pela inervação do PVAT da aorta torácica. Diversos outros trabalhos, realizados posteriormente, confirmaram a capacidade desse tecido em amortizar contrações induzidas por diferentes agonistas contráteis, e que esse efeito era causado por um fator derivado dos adipócitos, e não apenas por influência da inervação perivascular (GAO et al., 2007; DUBROVSKA et al., 2004; LÖHN et al., 2002; SOLTIS; CASSIS, 1991).

Esse efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica é ratificado no presente trabalho, visto que quando o PVAT foi mantido nos anéis da aorta torácica dos animais SO foi observada redução significativa da resposta contrátil à fenilefrina. É importante enfatizar que o efeito anticontrátil promovido pelo PVAT ocorreu na presença e na ausência do endotélio, tal qual a literatura tem demonstrado (VICTÓRIO e al., 2016; GAO e al., 2009; LEE et al., 2009).

De maneira inédita, o presente trabalho mostra que na IC o efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica está prejudicado. Estudos anteriores já haviam demonstrado que a disfunção do PVAT está presente em algumas doenças cardiovasculares, como na

obesidade e na hipertensão arterial (XIA et al., 2016; BUSSEY et al., 2016; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; ZENG et al., 2009). Dentre os mecanismos responsáveis pela disfunção do PVAT, a literatura tem apontado para alterações na quantidade e no padrão de expressão de adipocinas, que causam desequilíbrio parácrino desse tecido, tendo como consequência aumento na liberação de substâncias vasoconstritoras ($\cdot\text{O}_2^-$, ANG II) e pró-inflamatórias (IL-6, IL-8, and MCP-1) (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2013; FERNÁNDEZ-ALFONSO et al., 2013; MA et al., 2010; GAO et al., 2005).

Engeli e colaboradores (1999) encontraram a presença de componentes do SRA local no tecido adiposo (visceral, subcutâneo e células isoladas do tecido adiposo mamário) de humanos. A presença desses componentes também foi observada no PVAT branco (que reveste a artéria mesentérica) e marrom (que reveste a aorta torácica) de ratos, onde foram notadas diferenças entre a expressão dos componentes do SRA nos diferentes PVATs, sugerindo que esse exerça papéis diferentes, dependendo do tipo de tecido adiposo que reveste o vaso (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008). Todavia, os estudos que visam a definição dos efeitos dos componentes do SRA nos adipócitos têm-se centrado na regulação do crescimento, na diferenciação de adipócitos e no metabolismo lipídico (THATCHER et al., 2009; CASSIS et al., 2008). Alguns pesquisadores sugerem que a produção de componentes do SRA pelos adipócitos pode apresentar importante ligação para o surgimento das doenças cardiovasculares (CASSIS et al., 2008).

Confirmando a importância do SRA local para o PVAT, o presente trabalho demonstrou pela primeira vez que a atividade da ECA1 e 2 no PVAT eram superiores à atividade dessas enzimas nas respectivas aortas torácicas. Esse aumento foi observado tanto nas aortas torácicas dos animais SO quanto no IC, todavia esse aumento foi ainda maior na atividade da ECA 1 no PVAT dos animais com IC, constatando, assim, que o SRA parece estar envolvido tanto na fisiologia do PVAT quanto na fisiopatologia da disfunção desse tecido. Dessa maneira, é sugerido que a ANG II possa estar envolvida nas disfunções do PVAT observadas na IC.

Na IC o SRA é responsável, inicialmente, pelas respostas compensatórias diretas, alterando a resistência vascular periférica e a volemia, e indiretas, por meio da ativação do sistema nervoso simpático, com o objetivo de reestabelecer o débito cardíaco. Todavia, essa hiperativação sustentada promove prejuízos ao sistema cardiovascular, tais como hipertrofia cardíaca e aumento na deposição do colágeno, levando à deterioração progressiva da função do miocárdio (MA et al, 2010; PERONDI et al, 1992).

A alteração do SRA local no PVAT da aorta torácica dos animais com IC também foi confirmada pelo aumento na expressão de RNAm dos AT1R, AT2R e MASR no PVAT. A literatura tem sugerido que o SRA local teria duas funções principais, a primeira delas seria a formação de peptídeos de angiotensina para o controle de funções locais, e a segunda para servir como uma fonte para componentes sistêmicos do SRA (FOWLER et al., GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008; LU et al., 2007; 2009; ENGELI et al., 1999).

Como já demonstrado na literatura, o tecido adiposo é capaz de liberar uma grande quantidade de angiotensinogênio, produzindo uma grande quantidade de ANG II, e essa resposta é modulada pela diferença na expressão dos AT1R e AT2R (LU et al., 2007). Em condições em que existe um grande aumento nas concentrações de Ang II, como é o caso da IC, ocorre um aumento na expressão do AT1R e, conseqüentemente, do angiotensinogênio produzido pelo tecido adiposo (CASSIS et al., 2008; LU et al., 2007). Sendo assim, alterações do SRA circulante promovem um feedback positivo, aumentando, assim, a produção local de angiotensinogênio pelo tecido adiposo, causando disfunção no PVAT e nos tecidos adjacentes, os vasos sanguíneos.

O envolvimento do SRA na perda do efeito anicontrátil do PVAT da aorta torácica foi confirmado com a utilização dos antagonistas dos receptores AT1, AT2 e MAS.

O antagonismo do AT1R mostra a importância desse receptor para o controle do tônus vascular nos anéis de aorta torácica dos animais SO, já que a ANG II via receptor AT1, em condições fisiológicas, amplifica a contração à fenilefrina, na aorta torácica de ratos saudáveis (SO), na dependência do endotélio e que o PVAT parece não influenciar essa resposta. Por outro lado, na aorta dos IC, a ANG II via AT1R está associada à hiperreatividade à fenilefrina na dependência do endotélio e, primordialmente, do PVAT. Assim, de maneira inédita, estes resultados corroboram com a nossa hipótese de que, na IC, a ANG II, via AT1R, esteja envolvida tanto na disfunção endotelial quanto do PVAT.

Rosei e colaboradores (2015) também demonstraram o envolvimento de componentes do SRA na disfunção do PVAT. Utilizando artérias mesentéricas de resistências submetidas à hipóxia o efeito anticontrátil do PVAT foi abolido, contudo tanto a utilização de um antagonista do AT1R quanto de um inibidor da ECA1 foram capazes de restaurar o efeito anticontrátil do PVAT (ROSEI et al., 2015). Esse dado sugere um efeito específico dos antagonistas/inibidores do SRA na recuperação do efeito anticontrátil do PVAT e não apenas no efeito geral que as drogas exercem sobre a

contratilidade (ROSEI et al., 2015). Sugestão que se confirma com os dados do presente estudo na presença do antagonista do AT1R, no qual, na presença do PVAT (com ou sem endotélio), os anéis dos animais com IC apresentaram redução da resposta contrátil quando comparados aos anéis na ausência do PVAT.

A ANG II via AT2R reduz a contração à fenilefrina na presença do endotélio em condições fisiológicas (WIEMER et al., 1993). Sua principal função vascular é contribuir para o controle do tônus, mediando a vasodilatação e contrabalançando os efeitos vasoconstritores mediados pelo receptor AT1 (WIEMER et al., 1993; KATADA; MAJIMA, 2002). No presente estudo, a presença do antagonista do AT2R aumentou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis de aorta torácica com endotélio dos animais SO. Todavia, de maneira surpreendente e inédita, a incubação com o antagonista do receptor AT2 reduziu, significativamente, a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com endotélio na presença do PVAT. Não há relatos na literatura sobre o efeito vascular induzido pela ativação dos AT2R no PVAT da aorta torácica de ratos.

A utilização do antagonismo do AT2R com objetivo de avaliar a sua função nas respostas vasculares que envolvem o PVAT foi empregada em um estudo com estimulação elétrica em artéria mesentérica de rato. A estimulação elétrica promoveu aumento da contração da artéria mesentérica de maior magnitude na presença do PVAT, porém a utilização do antagonista do receptor AT2 não foi capaz de alterar essa resposta contrátil (LU et al., 2010). Recentemente Mshaik e colaboradores (2018) avaliaram a influência do AT2R nas respostas promovidas pelo PVAT em camundongos fêmeas, em que os anéis de aorta torácica dos animais que expressavam esse receptor (AT2R^{+/+}) apresentaram aumento da resposta contrátil quando na presença do PVAT, por outro lado, nos anéis da aorta torácica dos animais que não expressavam o AT2R (AT2R^{-/-}), o aumento da resposta contrátil foi abolido. Contudo, por se tratar de outra espécie e gênero, as respostas vasculares podem ser distintas das observadas no presente trabalho. Desta forma, mais estudos são necessários para entender o papel do AT2R no PVAT da aorta torácica.

Na aorta torácica dos animais com IC, de maneira surpreendente, a incubação com o antagonista do AT2R reduziu a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com endotélio sem PVAT, demonstrando que, na IC, ao contrário do observado nas artérias dos SO, a ativação dos AT2R potencializa a contração à fenilefrina, podendo ser essa outra via envolvida no aumento da resposta vasoconstritora observada. Além disso, o antagonismo do AT2R reduziu ainda mais a contração induzida pela fenilefrina quando

o PVAT foi mantido nesses anéis. É interessante frisar que nos anéis sem endotélio o antagonista dos AT2R não foi capaz de modificar a resposta contrátil à fenilefrina, entretanto, quando o PVAT foi mantido nos anéis sem endotélio, o antagonista promoveu redução da resposta contrátil, confirmando, assim, a participação desse receptor no prejuízo da resposta anticontrátil promovida pelo PVAT.

Os dados dos animais com IC apresentados a partir do antagonismo do AT2R são similares aos obtidos na presença do antagonismo do AT1R. Em conjunto, estes resultados demonstram que na aorta dos animais IC a ANG II via AT2R também contribui para a hiperreatividade vascular, por uma ação dependente do endotélio e amplificada pelo PVAT.

A literatura ainda apresenta poucas informações sobre a função do AT2R nas doenças cardiovasculares, se a sua ativação levaria a um efeito protetor ou deletério. Existe a possibilidade de a sua função em diferentes doenças ser dependente da etiologia e da severidade da mesma (CHOW; ALLEN, 2016). Dentre os efeitos deletérios, a literatura demonstra a participação do AT2R na hipertrofia do ventricular e na fibrose cardíaca observada na hipertensão arterial induzida pela infusão de angiotensina II (TAVARES et al., 2013; SENBONMATSU et al, 2000).

É importante salientar que o resultado obtido nos anéis dos animais com IC, no presente estudo, não pode ser atribuído a uma falta de seletividade do PD123312, visto que, nos anéis dos animais SO, encontramos a resposta clássica de aumento da contração quando na presença do antagonista do AT2R. Além disso, a literatura tem demonstrado que o PD123312 é seletivo para o AT2R, e que a concentração utilizada no presente trabalho é considerada específica para o AT2R, e apenas concentrações muito altas poderiam promover uma inibição não seletiva (BOSNYAK et al, 2011; MACARI et al, 1993).

Sabendo que o eixo ECA2/ANG 1-7/ MASR é caracterizado como um eixo, dentro do SRA, capaz de contrabalancear os efeitos induzidos pela ativação do eixo ECA1/ANG II/ AT1R, buscou-se também avaliar a participação dos receptores MAS na modulação da vasoconstrição induzida pela fenilefrina (SANTOS et al., 2013; SANTOS et al., 2003).

A incubação com o antagonista do receptor MAS induziu um pequeno, porém significativo aumento da contração induzida pela fenilefrina nos anéis da aorta torácica com e sem endotélio dos animais SO, dado esse que já foi demonstrado anteriormente (LE MOS et al., 2002). Por outro lado, de maneira surpreendente, o antagonismo do

MASR não modificou a contração induzida pela fenilefrina nos anéis com PVAT dos SO; assim, na presença do PVAT, o efeito vasodilatador induzido pela ativação dos receptores MAS na artéria é abolido. Dessa forma, demonstramos que, em condições fisiológicas, a angiotensina 1-7, via receptor MAS, reduz a contração à fenilefrina na aorta e esse efeito foi bloqueado na presença do PVAT.

Em direção oposta, nos anéis dos animais IC a incubação com A779 reduziu, significativamente, a contração induzida pela fenilefrina em todas as condições. Sendo assim, além dos receptores AT1 e AT2, a ativação dos receptores MAS, nas células endoteliais e de músculo liso vascular, provavelmente via angiotensina 1-7, contribuiu para a hiperreatividade vascular à fenilefrina observada na aorta dos animais IC, os quais, nessa artéria, induzem vasoconstrição. Porém, a ativação desses receptores no PVAT parece não estar envolvida em tal disfunção, visto que as respostas não diferiram entre a presença e ausência do PVAT.

É importante relatar que Lee e colaboradores (2009) demonstraram que a angiotensina 1-7 é um fator relaxante derivado do PVAT da aorta torácica, a qual se difunde para o endotélio e ativa vias de sinalização que culminam na liberação de NO, o qual promove a hiperpolarização das células do músculo liso vascular a partir da ativação de canais para K^+ sensíveis ao cálcio. Entretanto, apesar desses autores utilizarem a mesma espécie animal e artéria do presente estudo, os dados da reatividade na presença do antagonista do MASR não demonstraram que a ANG 1-7 seja um fator relaxante derivado do PVAT.

Zhou e colaboradores (2010) evidenciaram que a infusão de ANG 1-7 na região rostroventrolateral da medula aumentou a pressão arterial média e o fluxo simpático em ratos Sprague–Dawley. Adicionalmente, em modelo de insuficiência renal a infusão de angiotensina 1-7 foi associada ao incremento na pressão arterial e aumento do quadro de hipertrofia cardíaca e fibrose (VELKOSKA et al, 2011). Esses dados apontam para o fato de que as respostas provenientes da ativação do MASR nem sempre são antagônicas à ativação do AT1R, como se imaginava. Possivelmente, no modelo de IC utilizado no presente estudo, o MASR se comporta de forma distinta, estando a sinalização ANG 1-7/MASR envolvida com os efeitos deletérios da IC.

Sabe-se que a angiotensina II está envolvida na disfunção endotelial e no prejuízo do efeito anticontrátil do PVAT na aorta torácica dos animais IC, e que, principalmente via ativação dos AT1R, induz importantes efeitos vasculares por estimular a produção de ERO (MONTEZANO et al., 2014; RUIZ-ORTEGA et al., 2003). A

presença do estresse oxidativo, observada no presente trabalho, foi confirmada pelo aumento da fluorescência ao DHE tanto na aorta quanto no PVAT dos animais com IC; dessa forma, os presentes resultados sugerem que a disfunção endotelial e a redução do efeito anticontrátil do PVAT observada na aorta torácica dos animais IC estão associadas com estresse oxidativo.

As ERO são uma classe de moléculas quimicamente reativas, que em condições fisiológicas desempenham papéis importantes na regulação de uma variedade de processos biológicos, dentre eles o controle do tônus vascular e na função endotelial. No entanto, em doenças, como na IC, o estresse oxidativo induz severos danos vasculares, como remodelamento, inflamação e disfunção endotelial (COUTO et al., 2018; CHEN et al., 2018; GARCIA-REDONDO et al., 2016; COUTO et al., 2015; KORANDI et al., 2015; SINGAL; KIRSHENBAUM, 1990; PRASAD; KALRA, 1988). O aumento de ERO no PVAT também leva a disfunção desse tecido, prejuízo esse já descrito na hiperestimulação dos receptores β -adrenérgicos, diabetes tipo 2 e na obesidade (VICTÓRIO et al., 2016^a; ANTONOPOULOS et al., 2015; PADILLA et al., 2015; GIL-ORTEGA et al., 2014). No endotélio, diversos estudos têm associado a disfunção ao estresse oxidativo observado nas artérias de animais e pacientes com IC, sendo caracterizada por redução da modulação nitrérgica, uma vez que o ânion superóxido, por reagir rapidamente com o NO, reduz a sua biodisponibilidade (COUTO et al., 2018; COUTO et al., 2015; SCHÄFER et al., 2004; INDIK; GOLDMAN; GABALLA, 2001; BAUERSACHES et al., 1999; 2001). Assim, as ERO na IC são responsáveis pelas disfunções no endotélio e no PVAT.

Assim como já observado por outros grupos, o presente trabalho demonstrou que a redução da biodisponibilidade de NO, tanto nas artérias quanto no PVAT dos animais com IC, foi confirmada pelos experimentos de reatividade vascular na presença do inibidor não seletivo da NOS. Muller e colaboradores (1997) demonstraram, no leito vascular renal, que o NO é capaz de antagonizar as contrações induzidas pela ANG II via AT1R, todavia, em condições com baixa biodisponibilidade de NO, o AT2R passa a contribuir para a vasoconstrição induzida pela ANG II (MULLER et al., 1997). Assim, pode-se surgir, com o conjunto de resultados apresetados nessa tese, que a redução da biodisponibilidade de NO, causada pelo estresse oxidativo, possivelmente leva ao aumento da contração induzida pela fenilefrina via AT1R e AT2R, de maneira endotélio e PVAT dependente.

Esses resultados corroboram com trabalhos na literatura, que demonstram, em condições fisiológicas, o papel do endotélio e do PVAT em modular a contração à fenilefrina via síntese e liberação de NO (XIA et al., 2016; VICTÓRIO et al., 2016a; VICTÓRIO et al., 2016b), além da redução da biodisponibilidade de NO, mediada pelo endotélio, na aorta dos animais IC (; SCHÄFER et al., 2004; BAUERSACHES et al., 2001; INDIK et al., 2001; BAUERSACHES et al., 1999). Por sua vez, de maneira inédita e interessante, a modulação nitrérgica mediada pelo PVAT é abolida na aorta dos animais IC, fato esse que pode contribuir para a mudança funcional do receptor AT2, o qual é amplificado pela presença do PVAT.

5.2. Avaliação da influência do treinamento combinado (aeróbio e resistido) na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com insuficiência cardíaca

Como já é bem descrito na literatura e já foi destacado na primeira parte dessa tese, a IC gera danos funcionais ao coração, assim como a redução da capacidade aeróbia e a presença de miopatias do músculo esquelético, gerando a intolerância ao esforço físico, perda da força muscular e, conseqüente, prejuízo na qualidade de vida (BRUM et al., 2014; ADES et al., 2006; CLARK, 2005).

Utilizando as medidas da FE e da concentração plasmática do BNP, avaliou-se a severidade da disfunção cardíaca induzida pelo infarto do miocárdio, antes do protocolo de treinamento físico. A FE foi usada como critério para incluir os animais no presente estudo, e apenas os animais que apresentaram FE inferior a 35% após 4 semanas de infarto do miocárdio se mantiveram no estudo (COUTO et al., 2018). De forma similar, utilizamos uma linha de corte para o BNP, sabendo que sua concentração plasmática desse peptídeo se correlaciona positivamente com o estresse de parede ventricular (BRUGGINK et al., 2006; VANDERHEYDEN et al., 2004). Além disso, dados prévios do grupo, além de outros, demonstram que concentrações plasmáticas de BNP superiores a 0,3 ng/mL, em animais 4 semanas pós-IM estão correlacionadas com área de infarto superior a 30% do VE (PAULA, 2017; MAEDER et al., 2010).

A cirurgia de indução do IM gerou um dano na função ventricular, comprovado pela redução da FE, aumento do BNP plasmático e redução da capacidade física, demonstrando, assim, a eficiência do modelo em induzir a IC nos animais.

Posteriormente, as medidas da FE e da concentração plasmática do BNP, juntamente com os testes de capacidade máxima, foram utilizadas para a divisão dos animais em sedentários ou treinados. As divisões dos animais baseadas nesses parâmetros garantiram que ambos os grupos partissem de um mesmo ponto tanto relacionado aos danos da IC quanto à capacidade física.

Após 8 semanas de treinamento combinado, foi observado que os animais obtiveram aumento tanto da distância percorrida quanto da carga levantada, demonstrando a eficiência do exercício em melhorar a capacidade física nos animais SO e IC. Esses dados demonstram a eficiência do protocolo de treinamento combinado utilizado no presente trabalho em melhorar tanto a tolerância ao exercício, como observado com a melhora da distância percorrida no teste de esforço, como também na melhora da força muscular, demonstrada através do aumento da carga levantada no teste da escada após as 12 semanas de treinamento, dados esses que concordam com estudos que utilizaram o treinamento combinado em pacientes com IC. Conraads e colaboradores (2002) observaram aumento na capacidade física tanto de capacidade aeróbia (VO_2max) quanto anaeróbia (limiar anaeróbio). Esses dados também foram observados em outros estudos utilizando pacientes diabetes mellitus tipo 2, ratos hipertensos submetidos à ovariectomia e ratas diabéticas submetidas à ovariectomia, que submetidas ao treinamento combinado apresentaram melhora da capacidade aeróbia e anaeróbia (SHIMOJO e al., 2018; SANCHES et al., 2015; JORGE et al., 2011).

O treinamento físico como parte de uma reabilitação cardíaca tem sido largamente recomendado para pacientes com IC, na medida em que estudos têm demonstrado ser um meio altamente eficaz para melhorar a capacidade física e reduzir a morbidade (FLEG et al., 2015; KETEYIAN, 2011; BECKERS et al., 2008).

Atualmente, evidências crescentes têm demonstrado que tanto o exercício aeróbico quanto o de resistência são eficazes para promover benefícios para pacientes com insuficiência cardíaca estável (O'CONNOR et al., 2009; BECKERS et al., 2008; MAIORANA et al., 2000). Beckers e colaboradores (2008) demonstraram que o protocolo de treinamento combinado realizado durante 6 meses foi eficiente em melhorar a capacidade de exercício submáximo, a força muscular e a qualidade de vida de pacientes com IC (classe funcional II-III da NYHA). Além disso, esses autores afirmam que a ausência de efeitos desfavoráveis, como o remodelamento do ventrículo esquerdo, da mortalidade e de casos de internações hospitalares fornecem evidências da segurança na

utilização do treinamento resistido como uma terapia coadjuvante ao treinamento aeróbio (BECKERS et al., 2008).

Os animais do presente trabalho apresentavam redução da FE da PSVE e das derivadas de pressão e aumento na PDfVE, caracterizando-os, assim, com disfunção ventricular e possivelmente redução do débito cardíaco. Esses levam ao prejuízo na perfusão da musculatura esquelética e, conseqüentemente, a uma menor capacidade física.

O treinamento combinado utilizado no presente estudo reduziu parcialmente a PDfVE, sem modificar os demais parâmetros hemodinâmicos e morfométricos, o que pode refletir a melhora observada nos testes físicos. Dado similar foi observado por Nunes e colaboradores (2008), utilizando o mesmo modelo experimental de IC do presente estudo, os quais observaram que 8 semanas de treinamento aeróbio (natação) foi capaz de reduzir parcialmente a PDfVE.

Recentemente, Sanches e colaboradores (2018) demonstraram que o treinamento combinado foi capaz de atenuar as disfunções cardíacas (sistólica e diastólica), melhorando parâmetros cardíacos que foram prejudicados pelo diabetes e pela menopausa, tais como: fração de encurtamento, o tempo de relaxamento isovolumétrico, a velocidade de encurtamento circunferencial da fibra e a massa do ventrículo esquerdo. Esses benefícios promovidos pelo treinamento combinado ocorreram, possivelmente, pela redução da inflamação e do estresse oxidativo cardíaco em um modelo experimental de diabetes e menopausa (SANCHES et al, 2018). Outros trabalhos do mesmo grupo, utilizando modelos de hipertensão e menopausa e síndrome metabólica e menopausa, observaram resultados benéficos ao sistema cardiovascular, tais como redução da pressão arterial e da frequência cardíaca, além de promover uma adaptação benéfica na sensibilidade barorreflexa e na modulação autonômica cardiovascular em animais submetidos ao programa de treinamento combinado, similar ao utilizado no presente trabalho (SHIMOJO et al., 2018; CONTI et al., 2015).

O efeito benéfico do exercício aeróbio sobre o remodelamento ventricular na IC tem sido demonstrado em diferentes meta-análises (HAYKOWSKY et al, 2011), todavia os estudos afirmam que dados referentes ao treinamento combinado (aeróbio e resistido) ainda não são conclusivos (ZHANG et al, 2016; CHEN et al, 2012; HAYKOWSKY et al, 2011). O presente trabalho demonstra, a partir dessas informações, que o treinamento combinado foi eficiente em promover benefícios cardíacos, similares aos observados em estudos utilizando apenas o treinamento aeróbio.

Dados apresentados na primeira parte deste trabalho, assim como em diversos trabalhos da literatura, têm demonstrado que o PVAT da aorta torácica apresenta a capacidade de amortizar contração induzida por diferentes agonistas (VICTORIO et al., 2016b; LEE et al., 2009; GAO et al., 2007; GAO, et al, 2005; DUBROVSKA, et al., 2004; LÖHN et al., 2002). Entretanto, o estímulo contrátil promovido pelo aumento nas concentrações extracelular de KCl não foi alterado pela presença do PVAT, do endotélio ou da IC. Soltis e Cassis (1991) realizaram curva concentração resposta ao KCl em anéis de aorta torácica, na presença e na ausência do PVAT. Corroborando com os dados encontrados no presente estudo, esses autores não observaram diferenças entres os anéis com e sem PVAT. Embora os dados de KCl não sejam apresentados nos estudos, em modelo de animais pós-IM e IC, curvas concentração resposta ao nitroprussiato de sódio mostraram que o músculo liso vascular da aorta torácica desses animais não apresentavam prejuízo quando comparadas as curvas dos seus respectivos controles (SCHÄFER et al., 2004; DA CUNHA et al., 2004; BAUERSACHS et al., 2001).

Os dados apresentados demonstram que tanto a contração induzida pelo KCl quanto pela fenilefrina eram maiores na aorta abdominal dos SOs quando comparadas à aorta torácica. Além disso, o envolvimento do endotélio e do PVAT na função desses diferentes segmentos são bem distintos.

Os segmentos da aorta não são homogêneos, apresentando diferenças importantes tanto na sua função quanto na sua composição (elastina e colágeno) (SOKOLIS et al., 2008). Apesar de a literatura indicar que o relaxamento promovido pela acetilcolina na aorta torácica e abdominal sejam similares, existem diferenças nos mecanismos envolvidos no relaxamento dos diferentes segmentos (OLOYO; ELIAS; SOFOLA, 2012). Enquanto na aorta torácica o NO apresenta uma maior participação, na aorta abdominal produtos derivados da cicloxigenase e de o fator hiperpolarizante derivado do endotélio são predominantes (OLOYO; ELIAS; SOFOLA, 2012).

As diferenças que envolvem a aorta torácica e abdominal se estendem ao PVAT que as reveste. Enquanto a aorta abdominal tem um PVAT predominante branco, a aorta torácica está envolvida pelo PVAT predominantemente marrom (PADILLA et al., 2013). Essas diferenças no tipo do tecido adiposo possivelmente estão relacionadas às diferenças funcionais desse tecido, já que o fenótipo funcional do PVAT está diretamente ligado à sua localização anatômica (HILDEBRAND; STÜMER; PFEIFER, 2018). Estudos que avaliaram PVAT distintos têm demonstrado importantes diferenças na expressão de componentes do SRA, de marcadores inflamatórios e de liberação do NO

entre PVAT predominantemente branco e marrom (VICTORIO et al., 2016b; PADILLA et al., 2013; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008).

É interessante frisar que aos anéis da aorta abdominal na presença do endotélio, de todos os grupos avaliados no presente estudo, comportaram-se de forma semelhante entre a ausência e a presença do PVAT, confirmando mais uma vez que o PVAT desse segmento da aorta não apresenta a capacidade anticontrátil observada em outros segmentos. Dados publicados pelo grupo enfatizaram essa diferença fisiológica entre o PVAT da aorta torácica e abdominal, destacando funções específicas dos depósitos de PVAT no controle da função vascular, podendo isso se relacionar a diferenças na suscetibilidade à lesão vascular (VICTORIO et al., 2016b). Esses dados também foram reproduzidos por Watts e colaboradores (2011), utilizando o estímulo contrátil da angiotensina II.

Nas artérias dos animais com IC, observou-se dano endotelial em ambos os segmentos (abdominal e torácico), todavia o prejuízo na função anticontrátil do PVAT só foi observado na aorta torácica. Na aorta torácica, o treinamento combinado melhorou apenas a função anticontrátil do PVAT, sem promover alterações significativas na função endotelial que estava prejudicada pela IC. Por outro lado, na aorta abdominal o treinamento combinado reverteu completamente a disfunção endotelial da IC.

Podemos confirmar que o prejuízo no efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica não ocorre devido à alteração na quantidade desse tecido adiposo, visto que não houve diferenças entre o peso do PVAT nos animais SOs e ICs. Contudo, a IC reduziu significativamente a expressão gênica da UCP-1. A UCP-1 é expressa na membrana mitocondrial interna dos adipócitos marrons e beges e é a responsável pela termogênese molecular (OKAMATSU-OGURA et al., 2013; PALOU et al., 1998). Assim sendo, apesar da ausência de mudança quantitativa, foi demonstrado pela primeira vez que a IC promove mudança qualitativa nos adipócitos do PVAT da aorta torácica.

Por outro lado, o treinamento combinado, em ambos os grupos treinados, foi capaz de reduzir a quantidade do PVAT da aorta torácica. Essa redução no peso do PVAT da aorta torácica, em animais submetidos ao protocolo de exercício aeróbio, já foi descrita anteriormente, tanto em ratos saudáveis quanto em ratos que receberam dieta rica em gordura (ARAUJO et al., 2017; ARAUJO et al., 2015). Esses autores sugerem que essa redução do peso esteja associada a alterações morfológicas, visto que menores gotículas lipídicas foram observadas (ARAUJO et al., 2017; ARAUJO et al., 2015). Esses dados

ganham força pela capacidade do treinamento combinado de reverter parcialmente a redução na expressão da UCP-1 do PVAT dos animais com IC.

A literatura tem sugerido que o exercício tem a capacidade de liberar citocinas, produtos metabólicos, e, assim, ativar vias que induzem o *browning* (ALDISS et al., 2018; BOA et al., 2017). Esses estímulos pelos quais o exercício promoveriam o *browning* podem ser o aumento da atividade simpática, da IL-6, proteína quinase A, AMP cíclico, e até as EROs poderiam ativar vias de sinalização para esse processo, todavia essas respostas não foram confirmadas por nenhum estudo até o momento (ALDISS et al., 2018; BOA et al., 2017). Sendo assim, este trabalho é o primeiro a demonstrar a capacidade do treinamento combinado em promover *browning* no PVAT da aorta torácica de animais com IC, melhorando a funcionalidade desse tecido.

Corroborando com a ausência de efeito promovido pelo PVAT na aorta abdominal, não houve modificação do peso do PVAT desses animais. Discutiremos mais adiante o papel do endotélio nas alterações promovidas pela IC e pelo protocolo de treinamento combinado nessa artéria.

A partir de então, passou-se a investigar a função anticontrátil do PVAT da aorta torácica, tentando entender os mecanismos envolvidos no prejuízo da função anticontrátil e como o treinamento combinado atenua esse dano promovido pela IC.

Confirmando as alterações qualitativas do PVAT dos animais com IC, em adição à redução de UCP-1, houve redução na expressão gênica do marcador de tecido adiposo marrom (PDRM-16) e bege (ESPTI-1) e aumento do marcador de tecido adiposo branco (TCF-21). Essas diferenças demonstram uma mudança clara do fenótipo do PVAT das aortas torácicas dos animais com IC, promovendo, assim, o *whitening* e possivelmente uma mudança na quantidade das substâncias vasoativas e citocinas que está sendo liberada pelo PVAT, gerando o prejuízo na função anticontrátil. Em animais espontaneamente hipertensos (SHR), foi demonstrado que o nível de *browning* vai reduzindo com o envelhecimento de forma mais acelerada que em animais normotensos, e que esse prejuízo da perda mais precoce do *browning* no PVAT possivelmente contribua para a elevação da pressão arterial nesses animais (KONG et al., 2018).

O treinamento combinado, por sua vez, foi capaz de restaurar a expressão do EPSTI-1 e de reduzir a expressão do TCF-21. Esses dados demonstram a capacidade do treinamento combinado em promover o *browning* no PVAT dos animais com IC. Dados da literatura têm demonstrado que o exercício físico apresenta essa capacidade de promover o *browning* em alguns depósitos de tecido adiposo (subcutâneos e visceral),

contudo não está claro quais as vias de sinalização responsáveis por essa mudança, bem como se ela ocorre em todos os depósitos de tecido adiposo (ALDISS et al., 2018; ROCHA-RODRIGUES et al., 2016).

Dando continuidade, investigou-se se o efeito anticontrátil ocorria de forma dependente ou independente do endotélio. Os trabalhos envolvendo o PVAT têm demonstrado que existem fatores que são liberados pelo PVAT e vão agir de forma direta no músculo liso vascular, assim como fatores que vão ativar vias e sinalização para que o endotélio libere outros fatores (LEE et al., 2011a; LEE et al., 2009; GAO et al., 2007).

Nos anéis da aorta torácica dos animais SO sedentários e treinados, é possível observar que existe um efeito anticontrátil promovido pelo PVAT e pelo endotélio. Dentre as substâncias vasoativas que são liberadas por esses dois tecidos e apresentam essa capacidade anticontrátil, o NO merece destaque (BUSSEY et al., 2018; VICTORIO et al., 2016b; XIA et al., 2016; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; GIL-ORTEGA et al., 2010).

A principal fonte de produção de NO no sistema vascular é o endotélio vascular, e sua taxa de produção é modulada pelo estresse de cisalhamento (a força de atrito induzida pelo movimento do sangue nas células endoteliais) na parede vascular, o NO difunde-se ao seu alvo primário, as células musculares lisas adjacentes, para modular o relaxamento da musculatura lisa (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991). Ademais, recentemente a literatura tem demonstrado a capacidade de o PVAT produzir e liberar NO (VICTORIO et al., 2016b; XIA et al., 2016; GIL-ORTEGA et al., 2010). Esse NO pode ser produzido diretamente por meio da eNOS presente no PVAT da aorta torácica ou pode ainda ser liberado indiretamente por meio da liberação de adipocinas, como a adiponectina e a leptina (VICTORIO et al., 2016b; GIL-ORTEGA et al., 2010; CHEN et al., 2003). A utilização do inibidor não seletivo da NOS, no presente experimento, confirmou a participação do NO liberado pelo endotélio e pelo PVAT, na amortização da resposta contrátil, confirmando, assim, o NO como um fator anticontrátil do PVAT.

Nos anéis dos animais com IC, ocorreu uma redução da capacidade de amortizar a resposta contrátil tanto pelo endotélio quanto pelo PVAT. Parte desse prejuízo ocorreu devido ao prejuízo na biodisponibilidade de NO, seja por uma menor produção ou por uma maior inativação do NO pelas ERO (COUTO et al., 2018; XIA et al., 2016). Interessantemente, o treinamento combinado foi hábil em reverter parcialmente o prejuízo no PVAT, mas não no endotélio. Esse efeito benéfico do treinamento

combinado, no efeito anticontrátil do PVAT, foi devido a uma maior biodisponibilidade de NO, como observado após a inibição da NOS.

Indo de encontro à reduzida inibição na presença do L-NAME, nos anéis da aorta torácica dos animais ICs a expressão proteica da eNOS estava aumentada na aorta torácica dos animais com IC. Couto e colaboradores (2018) observaram dados similares em artérias coronárias septais, em que, apesar do prejuízo no relaxamento dependente de endotélio, promovido pela acetilcolina, as artérias apresentavam aumento na expressão da eNOS. Esses autores demonstram que apesar da maior expressão proteica da eNOS, essas artérias apresentavam menor expressão da GTP ciclohidrolase 1, uma enzima que limitante a biossíntese da BH₄. A ausência da BH₄ torna a eNOS desacoplada e, assim, apesar da sua maior expressão, essa eNOS produz menos NO e mais ERO (COUTO et al., 2018; COUTO et al., 2015).

O desacoplamento da eNOS também já foi sugerido em pacientes com IC (YAMAMOTO et al., 2015; DIXON et al., 2003). A ausência do cofator tetrahydrobiopterina (BH₄) faz com que a eNOS passe a produzir uma maior quantidade de superóxido (O₂⁻), o NO e O₂⁻ juntos podem formar peroxinitrito (ONOO⁻), que geralmente oxidam a BH₄ para sua forma oxidativa 7,8-dihydrobiopterin (BH₂), gerando, dessa forma, um ciclo contínuo de geração de ERO e aumento contínuo do dano vascular (XIA; FÖRSTERMANN; LI, 2017; BEVERS et al., 2006).

O protocolo de treinamento combinado, utilizado no presente estudo, foi capaz de reduzir a expressão proteica da eNOS na aorta torácica, apesar da ausência de melhora na reatividade vascular. Provavelmente, o treinamento tenha aumentado a disponibilidade de BH₄, e conseqüentemente promoveu o acoplamento da eNOS. Utilizando o mesmo modelo de IC do presente trabalho, Couto e colaboradores (2018) demonstraram que o treinamento aeróbico (de intensidade similar ao utilizado no presente trabalho) foi capaz de restaurar a biodisponibilidade de NO e diminuir as concentrações de ERO por meio do acoplamento eNOS.

No PVAT dos animais com IC houve uma redução da expressão gênica da eNOS. Adicionalmente, observou-se que esses animais apresentavam redução na expressão proteica da AMPK α 1/2, da expressão gênica do receptor β 3-AR e redução nas concentrações de adiponectina no PVAT. Todos esses fatores juntos culminam num importante prejuízo da via de sinalização do NO pelo PVAT, que foi demonstrado pelo prejuízo da função anicontrátil do PVAT da aorta torácica observado nos experimentos funcionais.

A literatura tem demonstrado que a ativação do receptor β_3 -AR, por meio da estimulação simpática, tem se mostrado de grande importância para o efeito anticontrátil do PVAT por duas funções principais: 1) liberação de adiponectina (SAXTON et al., 2018; WESTON et al., 2013) e 2) liberação direta de NO via β_3 AR/Gas/AMPC/PKB (DENG et al, 2010; CHEN et al., 2003). Por sua vez, a adiponectina liberada pelo tecido adiposo tem importantes ações vasculares, estimulando a produção de NO nas células endoteliais. Esse mecanismo envolve a fosforilação da eNOS em Ser¹¹⁷⁹ pela AMPK (DENG et al, 2010; CHEN et al., 2003). Dessa forma, foi demonstrado pela primeira vez que a perda do efeito anticontrátil do PVAT de animais com IC está disfuncional, e esse prejuízo envolve a redução da biodisponibilidade de NO diretamente, através da eNOS ou do receptor β_3 adrenérgico do PVAT, e indiretamente, através da ativação dos receptor β_3 adrenérgico estimulando a via de sinalização da adiponectina.

Os animais com ICt apresentaram aumento da expressão proteica e gênica da eNOS no PVAT. Esse aumento da eNOS foi acompanhado de uma maior expressão da AMPK α 1/2 e das concentrações de adiponectina, justificando, assim, a melhora da biodisponibilidade de NO observada nos ensaios de reatividade vascular nos anéis dos animais ICt. Todavia, o treinamento combinado não restaurou o prejuízo na expressão do receptor β_3 -AR, pois possivelmente a ausência de melhora dessa via tenha sido responsável devido ao treinamento combinado não ter restaurado completamente a disfunção do PVAT.

Existem poucos estudos que tiveram como objetivo avaliar o treinamento físico sobre o efeito anticontrátil do PVAT. Em um estudo realizado em ratos Wistar saudáveis, o protocolo de treinamento aeróbio não foi capaz de amplificar o efeito anticontrátil do PVAT da aorta torácica, mas, apesar disso, houve aumento da expressão da pAMPK^{thr172}/eNOS e redução na quantidade e morfologia do PVAT desses animais (ARAUJO et al., 2015). Já em animais que receberam dieta rica em gordura o treinamento aeróbio reduziu significativa a quantidade de PVAT e a expressão da proteína iNOS, bem como acarretou a diminuição das alterações morfológicas (ARAUJO et al., 2017).

Margaritis e colaboradores (2013) demonstraram que a adiponectina liberada pelo PVAT tem um importante papel na melhora no estado redox de vasos humanos com doenças cardiovasculares (artéria mamaria e veia safena), reacoplando a eNOS e melhorando o estado redox, exercendo um efeito protetor. Possivelmente esse efeito protetor da adiponectina liberada pelo PVAT ocorra em doenças menos severas ou em estágios iniciais, visto que em algumas condições já foi demonstrado que tanto o vaso

quanto o PVAT encontram-se disfuncionais (DEVALLANCE et al., 2018; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012).

No presente trabalho, o PVAT dos animais com IC apresentavam disfunção, todavia o protocolo de treinamento combinado foi capaz de aumentar as concentrações de adiponectina no PVAT e melhorar a função anticontrátil do PVAT. Assim, a medida da adiponectina local pôde trazer informação relevante para a saúde vascular.

Nøhr e colaboradores (2017) evidenciaram que a infusão crônica de um agente indutor de inflamação (lipopolissacarídeo) em camundongos reduzia a expressão gênica da UCP-1 tanto no tecido adiposo subcutâneo quanto no interscapular, ademais a adiponectina é uma importante citocina anti-inflamatória (OUCHI; WALSH, 2007). Assim, a redução da expressão da UCP-1 e das concentrações de adiponectinas do PVAT da aorta torácica dos animais com IC poderia estar relacionada a uma maior produção de citocinas inflamatórias.

Confirmando essa hipótese, avaliamos agentes pró e anti-inflamatórios liberados pelo PVAT. A IC aumentou a expressão gênica dos agentes pró-inflamatórios (IL-6, TNF- α e MCP-1) e reduziu as a expressão gênica do agente anti-inflamatório (IL-10). Por outro lado, o treinamento combinado foi capaz de reverter esses efeitos.

Dentre os prejuízos causados pelo aumento na liberação desses agentes inflamatórios, pelo PVAT, podemos citar: a IL-6 promove rigidez arterial (DU et al., 2015), o TNF α está relacionado ao prejuízo do efeito anticontrátil do PVAT (AL-JARALLAH et al., 2016) e a MPC-1 contribui para a formação de placas e progressão do dano vascular (MANKA et al., 2014). Sendo assim, a capacidade do treinamento combinado em reduzir esses marcadores é fundamental para a redução do dano vascular. Sanches e colaboradores (2018) observaram que o protocolo de treinamento combinado foi capaz de reduzir o TNF α e aumentar a IL-10 no coração de ratas diabéticas ovariectomizadas. Até o momento, apenas o presente trabalho utilizou esse protocolo de exercício em animais com IC.

Sumarizando, na IC ocorre disfunção tanto endotelial quanto do PVAT, a disfunção do PVAT é caracterizada por mudanças na qualidade do tecido adiposo, aumentando marcadores de tecido adiposo branco e reduzindo os marcadores de marrom e bege, além disso, esse tecido apresentava um perfil pró-inflamatório acentuado, no entanto, o treinamento combinado foi capaz de reverter parcialmente essas respostas.

Por fim, foram avaliadas as mudanças encontradas na aorta abdominal, a qual é mais propensa à arteriosclerose e aneurismas que a aorta torácica, mas, por outro lado,

a aorta torácica é mais suscetível a disfunções vasculares (LINDESAY et al. 2018). Essas diferenças são importantes fisiologicamente, visto que a aorta torácica tem um papel importante no amortecimento do volume sistólico (LINDESAY et al. 2018).

O aumento da rigidez observado no nível abdominal, comparado com a aorta torácica, deve ser explicado primeiro pelas diferenças da geometria da artéria e pela composição da parede da aorta, maior quantidade de elastina na aorta torácica e maior quantidade de colágeno na aorta abdominal (SOKOLIS et al., 2008). Assim, avaliamos as diferenças entre essas artérias na IC, já que são distintas fisiologicamente.

A ausência do efeito anticontrátil do PVAT da aorta abdominal possivelmente ocorra, visto que essa artéria possui maior rigidez e, assim, não necessita de fatores adicionais liberados pelo PVAT para a realização das suas funções, ao passo que a elasticidade é de grande importância na aorta torácica, assim, fatores que aumentem a sua dilatação são relevantes nesse segmento.

A ausência do efeito anticontrátil do PVAT da aorta abdominal foi confirmada pela inexistência de modificação no PVAT da aorta abdominal, pela ausência de alterações nos marcadores de tecido adiposo marrom, bege e branco e por mudanças na quantidade desse tecido entre os grupos. O treinamento combinado foi capaz apenas de aumentar a expressão do marcador de tecido adiposo bege no PVAT do ICt, todavia essa modificação não foi capaz de trazer benefícios funcionais a esse tecido, já que o PVAT da aorta abdominal não apresenta efeito anticontrátil, como demonstrado anteriormente (VICTÓRIO et al, 2016b; WATTS et al., 2011).

Quando a reatividade vascular, na ausência do PVAT, foi avaliada na aorta abdominal, observou-se que os animais com IC apresentavam uma menor modulação do endotélio, demonstrando que, assim como na aorta torácica, a aorta abdominal dos animais com ICs apresentavam disfunção endotelial e uma menor produção de NO.

Assim como ocorreu na aorta torácica, na aorta abdominal dos animais com IC havia uma maior expressão proteica da eNOS, apesar na reduzida biodisponibilidade observada na avaliação funcional com o inibidor da NOS. Isso sugere mais uma vez que a IC provoque o desacoplamento da eNOS.

O treinamento combinado foi hábil em reverter esse dano endotelial nos anéis de aorta abdominal, por aumentar a biodisponibilidade de NO e reduzir a expressão proteica da eNOS, possivelmente pela capacidade de reverter o desacoplamento da eNOS.

Gao e colaboradores (2012) demonstram que o desacoplamento da eNOS/deficiência do BH4 predispõe a formação de aneurisma na aorta abdominal. Os

autores sugerem que tratamentos que visem restabelecer a funcionalidade da eNOS sejam importantes para prevenir o surgimento e a evolução do aneurisma nessa artéria. Desta forma, o protocolo de treinamento combinado foi eficiente em promover benefícios a esse leito, sendo uma ferramenta eficiente para reverter os danos endoteliais causados pela IC.

Segundo Padilla e colaboradores (2013), a expressão de genes inflamatórios, marcadores de infiltração e de células imunes foram maiores no PVAT abdominal do que no PVAT da aorta torácica. Apesar disso, dentre os marcadores pró-inflamatórios avaliados, apenas a IL-6 esteve aumentada com a IC. Por outro lado, a expressão do gene da IL-10 estava aumentada em ambos os grupos que foram submetidos ao treinamento combinado.

Como citado acima, a aorta abdominal está mais suscetível a doenças como aneurismas e ateroscleroses, dessa forma, possivelmente apresente menores prejuízos na IC quando comparada à aorta torácica que apresentou prejuízos na função endotelial e do PVAT. Os efeitos vasculares não são generalizados, ou seja, nem os danos promovidos por diferentes doenças nem os benefícios adquiridos pelo treinamento estão presentes em todos os leitos vasculares ou terão a mesma amplitude (ZHU et al., 2013; STASSEN et al., 1997). Isso ocorre devido à especificidade de cada leito vascular, além disso, como já enfatizado anteriormente, as diferenças no PVAT, que reveste cada vaso, interferem de diferentes formas no controle do tônus vascular e na liberação de diferentes fatores vasoativos (VICTORIO et al., 2016; PADILLA et al., 2013).

É importante enfatizar que a ausência de efeitos do treinamento combinado nos animais SOT provavelmente ocorra pela intensidade do treinamento utilizada. O protocolo de treinamento utilizado no presente trabalho é de intensidade moderada (40-60% da capacidade máxima), seguindo as recomendações adequadas para pacientes com IC (PIEPOLI et al., 2011; POLLOCK ET AL., 2000). Desta forma, hipotetiza-se que os animais SOT necessitariam de uma maior intensidade de exercício para obterem benefícios, já que esses são animais saudáveis (POLLOCK ET AL., 2000).

6. CONCLUSÃO

6.1. Avaliação do papel do PVAT na reatividade vascular da aorta torácica dos ratos com insuficiência cardíaca

O prejuízo na função anticontrátil do PVAT na aorta torácica de animais com IC envolve a participação dos componentes do SRA, estando associada à maior ativação da ECA-1, provavelmente, via angiotensina II, e à participação dos receptores AT1 e AT2, os quais podem contribuir com o estresse oxidativo e prejuízo da modulação nitrérgica observados.

6.2. Avaliação da influência do treinamento combinado (aeróbico e resistido) na resposta anticontrátil do PVAT da aorta torácica e abdominal de ratos saudáveis e com insuficiência cardíaca

O treinamento físico combinado é capaz de restabelecer, pelo menos em parte, o padrão de expressão do tecido adiposo que compõe o PVAT da aorta torácica dos animais do grupo IC, induzindo o *browning*, melhorando a função anticontrátil e o perfil inflamatório. Por outro lado, o efeito anticontrátil do PVAT não foi observado na aorta abdominal. Porém, o treinamento físico combinado foi eficaz nos anéis de aorta abdominal de animais com IC em melhorar a hiperreatividade à fenilefrina de maneira dependente do endotélio via NO.

REFERÊNCIAS

ABU BAKAR, H.; ROBERT, D. W.; DALY, C.; RALEVIC, V. Sensory innervation of perivascular adipose tissue: a crucial role in artery vasodilatation and leptina release. **Cardiovascular Research**, v. 113, p. 962-972, 2017. doi: 10.1093/cvr/cvx062.

ADAMS, J.; CLINE, M.J.; HUBBARD, M.; MCCULLOUGH, T.; HARTMAN, J. A new paradigm for post-cardiac event resistance exercise guidelines. **American Journal of Cardiology**, v. 97, p. 281-286, 2006a.

ADAMS, J.; CLINE, M.; REED, M.; MASTERS, A.; EHLKE, K.; HARTMAN, J. Importance of resistance training for patients after a cardiac event. **Proceedings (Baylor University. Medical Center)**, v. 19, p. 246-248, 2006b.

ADES, P.A.; SAVAGE, P.D.; BRAUNER, C.A.; LYON, C.E.; EHRMAN, J.K.; BUNN, J.Y.; KETEYIAN, S.J. Aerobic capacity in patients entering cardiac rehabilitation. **Circulation**, v. 113, p. 2706-12, 2006.

AGHAMOHAMMADZADEH, R.; GREENSTEIN, A.S.; YADAV, R.; JEZIORSKA, M.; HAMA, S.; SOLTANI, F.; PEMBERTON, P.W.; AMMORI, B.; MALIK, R.A.; SORAN, H.; HEAGERTY, A.M. Effects of bariatric surgery on human small artery function: evidence for reduction in perivascular adipocyte inflammation, and the restoration of normal anticontractile activity despite persistent obesity. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, p. 128-135, 2013. doi: 10.1016/j.jacc.2013.04.027.

AGHAMOHAMMADZADEH, R.; UNWIN, R.D.; GREENSTEIN, A.S.; HEAGERTY, A.M. Effects of Obesity on Perivascular Adipose Tissue Vasorelaxant Function: Nitric Oxide, Inflammation and Elevated Systemic Blood Pressure. **Journal of Vascular Research**, v. 52, p. 299-305, 2015. doi: 10.1159/000443885.

AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, p. 327-332, 2000.

AL-JARALLAH, A.; ORIOWO, M.A. Loss of Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue on Pregnant Rats: A Potential Role of Tumor Necrosis Factor- α . **Journal Of Cardiovascular Pharmacology**, v. 67, p. 145-51, 2016. doi: 10.1097/FJC.0000000000000326.

ALBUQUERQUE, D.C.; NETO, J.D.; BACAL, F.; ROHDE, L.E.; BERNARDEZ-PEREIRA, S.; BERWANGER, O.; ALMEIDA, D.R. Investigadores Estudo BREATHE. I Brazilian Registry of Heart Failure - Clinical Aspects, Care Quality and Hospitalization Outcomes. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 104, p. 433-42, 2015. doi: 10.5935/abc.20150031

ALDISS, P.; BETTS, J.; SALE, C.; POPE, M.; BUDGE, H.; SYMONDS, M.E. Exercise-induced 'browning' of adipose tissues. **Metabolism**, v. 81, p. 63-70, 2018. doi: 10.1016/j.metabol.2017.11.009.

ALVES, J.P.; NUNES, R.B.; FERREIRA, D.D.C.; STEFANI, G.P.; JAENISCH, R.B.; LAGO, P.D. High-intensity resistance training alone or combined with aerobic training improves strength, heart function and collagen in rats with heart failure. **American Journal of Translational Research**, v. 9, p. 5432-5441, 2017.

AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 18, p. 1563-1572, 2000. doi:10.1097/00004872-200018110-00006.

ANDERSEN, J.L.; SCHJERLING, P.; ANDERSEN, L.L.; DELA, F. Resistance training and insulin action in humans: effects of de-training. **Journal of Physiology**, v. 551, p. 1049-58, 2003.

ANGELI, J.K.; RAMOS, D.B.; CASALI, E.A.; SOUZA, D.O.; SARKIS, J.J.; STEFANON, I.; VASSALLO, D.V.; FÜRSTENAU, C.R. Gadolinium increases the vascular reactivity of rat aortic rings. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 445-52, 2011. doi: 10.1590/S0100-879X2011007500044.

ARAUJO, H.N.; VALGAS DA SILVA, C.P.; SPONTON, A.C.; CLERICI, S.P.; DAVEL, A.P.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A.; DELBIN, M.A. Perivascular adipose tissue and vascular responses in healthy trained rats. **Life Science**, v. 125, p. 79-87, 2015. doi: 10.1016/j.lfs.2014.12.032.

ARAUJO, H.N.; VICTÓRIO, J.A.; VALGAS DA SILVA, C.P.; SPONTON, A.C.S.; VETTORAZZI, J.F.; DE MORAES, C.; DAVEL, A.P.; ZANESCO, A.; DELBIN, M.A. Anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in thoracic aorta from rats fed a high-fat diet: role of aerobic exercise training. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 45, p. 293-302, 2018. doi: 10.1111/1440-1681.12882.

AYALA-LOPEZ, N.; THOMPSON, J.M.; WATTS, S.W. Perivascular Adipose Tissue's Impact on Norepinephrine-Induced Contraction of Mesenteric Resistance Arteries. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 37, 2017. doi: 10.3389/fphys.2017.00037.

BAKER, K.M.; CHERNIN, M.I.; SCHREIBER, T.; SANGHI, S.; HAIDERZAIDI, S.; BOOZ, G.W.; DOSTAL, D.E.; KUMAR, R. Evidence of a novel intracrine mechanism in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. **Regulatory Peptides**, v. 120, p. 5-13, 2004. doi:10.1016/j.regpep.2004.04.004.

BANZ, W.J.; MAHER, M.A.; THOMPSON, W.G.; BASSETT, D.R.; MOORE, W.; ASHRAF, M.; KEEFER, D.J.; ZEMEL, M.B. Effects of resistance versus aerobic training on coronary artery disease risk factors. **Experimental biology and medicine (Maywood)**, v. 228, p. 434-340, 2003.

BAUERSACHS, J.; BOULOUMIÉ, A.; FRACCAROLLO, D.; HU, K.; BUSSE, R.; ERTL, G. Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. **Circulation**, v. 100, p. 292-298, 1999.

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 q guanylyl cyclase expression. **Cardiovascular Research**, v. 51, p. 344–350, 2001.

BAUERSACHS, J.; HECK, M.; FRACCAROLLO, D.; HILDEMANN, S.K.; 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 American College of Cardiology**, v. 39, p. 351-358, 2002.

BAUERSACHS, J.; WIDDER, J.D. Endothelial dysfunction in heart failure. **Pharmacological Reports**, v. 60, p. 119-126, 2008.

BECK, D.T.; MARTIN, J.S.; CASEY, D.P.; BRAITH, R.W. Exercise training improves endothelial function in resistance arteries of young prehypertensives. **Journal of Human Hypertension**, v. 28, p. 303-9, 2014. doi: 10.1038/jhh.2013.109.

BECKMAN, J.S.; KOPPENOL, W.H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **American Journal of Physiology**, v. 271, p. C1424-1437, 1996.

BECKERS, P.J.; DENOLLET, J.; POSSEMIERS, N.M.; WUYTS, F.L.; VRINTS, C.J.; CONRAADS, V.M. Combined endurance-resistance training vs. endurance training in patients with chronic heart failure: a prospective randomized study. **European Heart Journal**, v. 29, p. 1858-66, 2008. doi: 10.1093/eurheartj/ehn222.

BELTOWSKI, J.; GURANOWSKI, A.; JAMROZ-WIŚNIEWSKA, A.; WOLSKI, A.; HAŁAS, K. Hydrogen-sulfide-mediated vasodilatory effect of nucleoside 5'-monophosphorothioates in perivascular adipose tissue. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 93, p. 585-595, 2005. doi: 10.1139/cjpp-2014-0543.

BENETTI, M.; ARAUJO, C.L.; SANTOS, R.Z. Cardiorespiratory fitness and quality of life at different exercise intensities after myocardial infarction. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 95, p. 399-404, 2010.

BENJAMIN, E.J.; BLAHA, M.J.; CHIUVE, S.E.; CUSHMAN, M.; DAS, S.R.; DEO, R.; DE FERRANTI, S.D.; FLOYD, J.; FORNAGE, M.; GILLESPIE, C.; et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 135, p. e146-e603, 2017. doi: 10.1161/CIR.000000000000485.

BERRY, D.C.; STENESEN, D.; ZEVE, D.; GRAFF, J.M. The developmental origins of adipose tissue. **Development**, v. 140, p. 3939-49, 2013. doi: 10.1242/dev.080549.

BEVERS, L.M.; BRAAM, B.; POST, J.A.; VAN ZONNEVELD, A.J.; RABELINK, T.J.; KOOMANS, H.A.; VERHAAR, M.C.; JOLLES, J.A. Tetrahydrobiopterin, but not L-arginine, decreases NO synthase uncoupling in cells expressing high levels of endothelial NO synthase. **Hypertension**, v. 47, p. 87-94, 2006.

BOA, B.C.S.; YUDKIN, J.S.; VAN HINSBERGH, V.W.M.; BOUSKELA, E.; ERINGA, E.C. Exercise effects on perivascular adipose tissue: endocrine and paracrine determinants of vascular function. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, p. 3466-3481, 2017. doi: 10.1111/bph.13732.

BOCCHI, E.A.; MARCONDES-BRAGA, F.G.; AYUB-FERREIRA, S.M.; ROHDE, L.E.; OLIVEIRA, W.A.; ALMEIDA, D.R.; et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 93, p. 1-7, 2009.

BOSNYAK, S.; JONES, E.S.; CHRISTOPOULOS, A.; AGUILAR, M.I.; THOMAS, W.G.; WIDDOP, R.E. Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. **Clinical Science** (Lond), v. 121, p. 297-303, 2011. doi: 10.1042/CS20110036.

BOYDENS, C.; PAUWELS, B.; VAN DE VOORDE, J. Effect of resveratrol and orchidectomy on the vasorelaxing influence of perivascular adipose tissue. **Heart Vessels**, v. 31, p. 608-15, 2016. doi: 10.1007/s00380-015-0664-2.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-54, 1976.

BRAITH, R.W.; BECK, D.T. Resistance exercise: training adaptations and developing a safe exercise prescription. **Heart Failure Reviews**, v. 13, p. 69-79, 2008.

BRUGGINK, A.H.; DE JONGE, N.; VAN OOSTERHOUT, M.F.; VAN WICHEN, D.F.; DE KONING, E.; LAHPOR, J.R.; KEMPERMAN, H.; GMELIG-MEYLING, F.H.; DE WEGER, R.A. Brain natriuretic peptide is produced both by cardiomyocytes and cells infiltrating the heart in patients with severe heart failure supported by a left ventricular assist device. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 25, p. 174-80, 2006.

BRUM, P.C.; BACURAU, A.V.; CUNHA, T.F.; BECHARA, L.R.; MOREIRA, J.B. Skeletal myopathy in heart failure: effects of aerobic exercise training. **Experimental Physiology**, v. 99, p. 616-20, 2014. doi: 10.1113/expphysiol.2013.076844.

BUNKER, A.K.; LAUGHLIN, M.H. Influence of exercise and perivascular adipose tissue on coronary artery vasomotor function in a familial hypercholesterolemic porcine atherosclerosis model. **Journal of Applied Physiology** (1985), v. 108, p. 490-497, 2010. doi: 10.1152/jappphysiol.00999.2009.

BUSSE, R.; FLEMING, I. Regulation of endothelium-derived vasoactive autacoid production by hemodynamic forces. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 24, p. 24-29, 2003.

BUSSEY, C.E.; WITHERS, S.B.; ALDOUS, R.G.; EDWARDS, G.; HEAGERTY, A.M. Obesity-Related Perivascular Adipose Tissue Damage Is Reversed by Sustained Weight

Loss in the Rat. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. V. 36, p. 1377-1385, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307210.

BUSSEY, C.E.; WITHERS, S.B.; SAXTON, S.N.; BODAGH, N.; ALDOUS, R.G.; HEAGERTY, A.M. $\beta(3)$ -Adrenoceptor stimulation of perivascular adipocytes leads to increased fat cell-derived NO and vascular relaxation in small arteries. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, p. 3685-3698, 2018. doi: 10.1111/bph.14433.

CAI, H.; HARRISON, D.G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circulation Research**, v. 87, p. 840-844, 2000.

CAMPBELL, D.J.; HABENER, J.F. Cellular localization of angiotensinogen gene expression in brown adipose-tissue and mesentery: Quantification of messenger ribonucleic acid abundance using hybridization in situ. **Endocrinology**, v. 121, p. 1616-1626, 1987.

CARNEIRO-RAMOS, M.S.; SILVA, V.B.; SANTOS, R.A.; BARRETO-CHAVES, M.L. Tissue-specific modulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) in hyperthyroidism. **Peptides**, v. 27, p. 2942-9, 2006.

CASSIS, L.A.; POLICE, S.B.; YIANNIKOURIS, F.; THATCHER, S.E. Local adipose tissue renin-angiotensin system. **Current Hypertension Reports**, v. 10, p. 93-8, 2008.

CHATTERJEE, T.K.; STOLL, L.L.; DENNING, G.M.; HARRELSON, A.; BLOMKALNS, A.L.; IDELMAN, G.; ROTHENBERG, F.G.; NELTNER, B.; ROMIG-MARTIN, S.A.; DICKSON, E.W.; RUDICH, S.; WEINTRAUB, N.L. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. **Circulation Research**, v. 104, p. 541-549, 2009. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.182998.

CHEN, H.; MONTAGNANI, M.; FUNAHASHI, T.; SHIMOMURA, I.; QUON, M.J. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 278, p. 45021-6, 2003.

CHEN, Q.; WANG, Q.; ZHU, J.; XIAO, Q.; ZHANG, L. Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, p. 1279-1292, 2018.

CHEN, Y.M.; LI, Z.B.; ZHU, M.; CAO, Y.M. Effects of exercise training on left ventricular remodelling in heart failure patients: an updated meta-analysis of randomised controlled trials. **International Journal of Clinical Practice**, v. 66, p. 782-791, 2012. doi: 10.1111/j.1742-1241.2012.02942.x.

CHONG, A.Y.; BLANN, A.D.; PATEL, J.; FREESTONE, B.; HUGHES, E.; LIP, G.Y. Endothelial dysfunction and damage in congestive heart failure: relation of flow-mediated dilation to circulating endothelial cells, plasma indexes of endothelial damage, and brain natriuretic peptide. **Circulation**, v. 110, p. 1794-8, 2004.

CHOW, B.S.; ALLEN, T.J. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) in renal and cardiovascular disease. **Clinical Science (Lond)**, v. 130, p. 1307-26, 2016. doi: 10.1042/CS20160243.

CHRYSOHOOU, C.; ANGELIS, A.; TSITSINAKIS, G.; SPETSIOTI, S.; NASIS, I.; TSIACHRIS, D.; RAPAPOULIAS, P.; PITSAVOS, C.; KOULOURIS, N.G.; VOGIATZIS, I.; DIMITRIS, T. Cardiovascular effects of high-intensity interval aerobic training combined with strength exercise in patients with chronic heart failure. A randomized phase III clinical trial. **International Journal of Cardiology**, v. 179, p. 269-74, 2015. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.11.067.

CLARKE, C.; FLORES-MUÑOZ, M.; MCKINNEY, C.A.; MILLIGAN, G.; NICKLIN, S.A. Regulation of cardiovascular remodeling by the counter-regulatory axis of the renin-angiotensin system. **Future Cardiology**, v. 9, p. 23-38. doi: 10.2217/fca.12.75.

CONTI, F.F.; BRITO, J.D.E.O.; BERNARDES, N.; DIAS, D.D.A.S.; MALFITANO, C.; MORRIS, M.; LLESUY, S.F.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative**, v. 309, p. R1532-9, 2015. doi: 10.1152/ajpregu.00076.2015.

CONTRERAS, G.A.; THELEN, K.; AYALA-LOPEZ, N.; WATTS, S.W. The distribution and adipogenic potential of perivascular adipose tissue adipocyte progenitors is dependent on sexual dimorphism and vessel location. **Physiological Report**, v. 4, p. e12993, 2016.

COSTA, R.M.; FILGUEIRA, F.P.; TOSTES, R.C.; CARVALHO, M.H.; AKAMINE, E.H.; LOBATO, N.S. H₂O₂ generated from mitochondrial electron transport chain in thoracic perivascular adipose tissue is crucial for modulation of vascular smooth muscle contraction. **Vascular Pharmacology**, v. 84, p. 28-37, 2016. doi: 10.1016/j.vph.2016.05.008.

COUTO, G.K.; BRITTO, L.R.; MILL, J.G.; ROSSONI, L.V. Enhanced nitric oxide bioavailability in coronary arteries prevents the onset of heart failure in rats with myocardial infarction. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 86, p. 110-120, 2015. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.07.017.

COUTO, G.K.; PAULA, S.M.; GOMES-SANTOS, I.L.; NEGRÃO, C.E.; ROSSONI, L.V. Exercise training induces eNOS coupling and restores relaxation in coronary arteries of heart failure rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 314, p. H878-H887, 2018. doi: 10.1152/ajpheart.00624.2017.

DA CUNHA, V.; STEFANON, I.; MILL, J.G. Role of nitric oxide in mediating cardiovascular alterations accompanying heart failure in rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 82, p. 372-9, 2004.

DE MAEYER, C.; BECKERS, P.; VRINTS, C. J.; CONRAADS, V.M. Exercise training in chronic heart failure. **Therapeutic advances in chronic disease**, v. 4, p. 105-17, 2013.

DE MORAES, C.; DAVEL, A.P.; ROSSONI, L.V.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and

mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiology**, v. 8, p. 12, 2008. doi: 10.1186/1472-6793-8-12.

DENG, G.; LONG, Y.; YU, Y.R.; LI, M.R. Adiponectin directly improves endothelial dysfunction in obese rats through the AMPK-eNOS Pathway. **International Journal of Obesity** (Lond), v, 34, p. 165-71, 2010. doi: 10.1038/ijo.2009.205.

DEVALLANCE, E.; BRANYAN, K.W.; LEMASTER, K.; OLFERT, I.M.; SMITH, D.M.; PISTILLI, E.E.; FRISBEE, J.C.; CHANTLER, P.D. Aortic dysfunction in metabolic syndrome mediated by perivascular adipose tissue TNF α - and NOX2-dependent pathway. **Experimental Physiology**, v. 103, p. 590-603, 2018. doi: 10.1113/EP086818.

DINIZ, G.P.; SENGER, N.; CARNEIRO-RAMOS, M.S.; SANTOS, R.A.; BARRETO-CHAVES, M.L. Cardiac ACE2/angiotensin 1-7/Mas receptor axis is activated in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**, v. 10, p.192-202, 2016. doi: 10.1177/1753944715623228.

DIXON, L.J.; MORGAN, D.R.; HUGHES, S.M.; MCGRATH, L.T.; EL-SHERBEENY, N.A.; PLUMB, R.D.; DEVINE, A.; LEAHEY, W.; JOHNSTON, G.D.; MCVEIGH, G.E. Functional consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling in congestive cardiac failure. **Circulation**, v. 107, p. 1725-8, 2003.

DONATO, A.J.; GANO, L.B.; ESKURZA, I.; SILVER, A.E.; GATES, P.E.; JABLONSKI, K.; SEALS, D.R. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, p. H425-432, 2009. doi: 10.1152/ajpheart.00689.2008.

DU, B.; OUYANG, A.; ENG, J.S.; FLEENOR, B.S. Aortic perivascular adipose-derived interleukin-6 contributes to arterial stiffness in low-density lipoprotein receptor deficient mice. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 308, p. H1382-90, 2015. doi: 10.1152/ajpheart.00712.2014.

DUBEY, R.K.; JACKSON, E.K.; LÜSCHER, T.F. Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cell. Role of cyclic-nucleotides and angiotensin I receptors. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, p. 141-9, 1995.

DUBROVSKA, G.; VERLOHREN, S.; LUFT, F.C.; GOLLASCH, M. Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 286, p. H1107-1113, 2004.

ENGELI, S.; GORZELNIAK, K.; KREUTZ, R.; RUNKEL, N.; DISTLER, A.; SHARMA, A.M. Co-expression of renin-angiotensin system genes in human adipose tissue. **Journal of Hypertension**, v. 17, p. 555-60, 1999.

ENGELI, S.; SCHLING, P.; GORZELNIAK, K.; BOSCHMANN, M.; JANKE, J.; AILHAUD, G.; TEBOUL, M.; MASSIÉRA, F.; SHARMA, A.M. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 35, p. 807-25, 2003.

FARIA, T.D.E.O.; TARGUETA, G.P.; ANGELI, J.K.; ALMEIDA, E.A.; STEFANON, I.; VASSALLO, D.V.; LIZARDO, J.H. Acute resistance exercise reduces blood pressure and vascular reactivity, and increases endothelium-dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 110, p. 359-66, 2010. doi: 10.1007/s00421-010-1508-5.

FANG, L.; ZHAO, J.; CHEN, Y.; MA, T.; XU, G.; TANG, C.; LIU, X.; GENG, B. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. **Journal of Hypertension**, v. 27, p. 2174-85, 2009. doi: 10.1097/HJH.0b013e328330a900.

FELETOU, M.; VANHOUTTE, P.M. Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 93, p. 515-24, 1988.

FERNÁNDEZ-ALFONSO, M.S.; GIL-ORTEGA, M.; GARCÍA-PRIETO, C.F.; ARANGUEZ, I.; RUIZ-GAYO, M.; SOMOZA, B. Mechanisms of perivascular adipose tissue dysfunction in obesity. **International Journal of Endocrinology**, v. 402053, 2013. doi: 10.1155/2013/402053.

FERNÁNDEZ-ALFONSO, M.S.; GONZÁLEZ, C. Nitric oxide and the renin-angiotensin system. Is there a physiological interplay between the systems? **Journal of Hypertension**, v. 17, p. 1355-61, 1999.

FÉSÜS, G.; DUBROVSKA, G.; GORZELNIAK, K.; KLUGE, R.; HUANG, Y.; LUFT, F.C.; GOLLASCH, M. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. **Cardiovascular Research**, v. 75, p. 719-27, 2007.

FLAMMER, A.J.; LÜSCHER, T.F. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. **Swiss Medical Weekly**, v. 140, p. w13122, 2010. doi: 10.4414/smw.2010.13122.

FLEG, J. L.; COOPER, L. S.; BORLAUG, B. A.; HAYKOWSKY, M. J.; KRAUS, W. E.; LEVINE, B. D.; PFEFFER, M. A.; PIÑA, I. L.; POOLE, D. C.; REEVES, G. R.; WHELLAN, D. J.; KITZMAN, D. W.; National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group. Exercise training as therapy for heart failure: current status and future directions. **Circulation. Heart failure**, v. 8, p. 209-20, 2015.

FONTES, M.T.; SILVA, T.L.; MOTA, M.M.; BARRETO, A.S.; ROSSONI, L.V.; SANTOS, M.R. Resistance exercise acutely enhances mesenteric artery insulin-induced relaxation in healthy rats. **Life Science**, v. 94, p. 24-9, 2014. doi: 10.1016/j.lfs.2013.11.017.

FOWLER, J.D.; JOHNSON, N.D.; HAROLDSON, T.A.; BRINTNALL, J.A.; HERRERA, J.E.; KATZ, S.A.; BERNLOHR, D.A. Regulated renin release from 3T3-L1 adipocytes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 296, p. E1383-91, 2009. doi: 10.1152/ajpendo.00025.2009.

FRANKLIN, B.A.; LAVIE, C.J.; SQUIRES, R.W.; MILANI, R.V. Exercise-based cardiac rehabilitation and improvements in cardiorespiratory fitness: implications regarding patient benefit. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 88, p. 431-7, 2013. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.03.009.

FREED, J.K.; GUTTERMAN, D.D. Communication Is Key: Mechanisms of Intercellular Signaling in Vasodilation. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 69, p. 264-272, 2017. doi: 10.1097/FJC.0000000000000463.

FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-6, 1980.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, p. 224-36, 2008. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.01981.x.

GABALLA, M.A.; RAYA, T.E.; GOLDMAN, S. Large artery remodeling after myocardial infarction. **American Journal of Physiology**, v. 268, p. H2092-103, 1995.

GÁLVEZ, B.; DE CASTRO, J.; HEROLD, D.; DUBROVSKA, G.; ARRIBAS, S.; GONZÁLEZ, M.C.; ARANGUEZ, I.; LUFT, F.C.; RAMOS, M.P.; GOLLASCH, M.; FERNÁNDEZ ALFONSO, M.S. Perivascular adipose tissue and mesenteric vascular function in spontaneously hypertensive rats. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, p. 1297-302, 2006.

GÁLVEZ-PRIETO, B.; BOLBRINKER, J.; STUCCHI, P.; DE LAS HERAS, A.I.; MERINO, B.; ARRIBAS, S.; RUIZ-GAYO, M.; HUBER, M.; WEHLAND, M.; KREUTZ, R.; FERNANDEZ-ALFONSO, M.S. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. **Journal of Endocrinology**, v. 197, p. 55-64, 2008. doi: 10.1677/JOE-07-0284.

GÁLVEZ-PRIETO, B.; SOMOZA, B.; GIL-ORTEGA, M.; GARCÍA-PRIETO, C.F.; DE LAS HERAS, A.I.; GONZÁLEZ, M.C.; ARRIBAS, S.; ARANGUEZ, I.; BOLBRINKER, J.; KREUTZ, R.; RUIZ-GAYO, M.; FERNÁNDEZ-ALFONSO, M.S. Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue and Leptin are Reduced in Hypertension. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3, p. 103, 2012. doi: 10.3389/fphar.2012.00103.

GARCÍA-REDONDO, A.B.; AGUADO, A.; BRIONES, A.M.; SALAICES, M. NADPH oxidases and vascular remodeling in cardiovascular diseases. **Pharmacological Research**, v. 114, p. 110-120, 2016.

GAO, L.; SIU, K.L.; CHALUPSKY, K.; NGUYEN, A.; CHEN, P.; WEINTRAUB, N.L.; GALIS, Z.; CAI, H. Role of uncoupled endothelial nitric oxide synthase in abdominal aortic aneurysm formation: treatment with folic acid. **Hypertension**, v. 59, p. 158-66, 2012. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.181644.

GAO, Y.J. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, p. 2185-2192, 2007.

GAO, Y.J.; LU, C.; SU, L.Y.; SHARMA, A.M.; LEE, R.M. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. **British Journal of Pharmacology**, p. 151, p. 323-331, 2007.

GAO, Y.J.; ZENG, Z.H.; TEOH, K.; SHARMA, A.M.; ABOUZAHR, L.; CYBULSKY, I.; LAMY, A.; SEMELHAGO, L.; LEE, R.M. Perivascular adipose tissue modulates vascular function in the human internal thoracic artery. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 130, p. 1130-1136, 2005.

GHORAYEB, N.; COSTA, R.V.C.; CASTRO, I.; DAHER, D.J.; OLIVEIRA FILHO, J.A.; OLIVEIRA, M.A.B. et al. Diretriz em Cardiologia do Esporte e do Exercício da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 100, p. 1-41, 2013.

GIANNUZZI, P.; MEZZANI, A.; SANER, H.; BJÖRNSTAD, H.; FIORETTI, P.; MENDES, M.; COHEN-SOLAL, A.; DUGMORE, L.; HAMBRECHT, R.; HELLEMANS, I.; MCGEE, H.; PERK, J.; VANHEES, L.; VERESS, G. Working Group on Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology. European Society of Cardiology. Physical activity for primary and secondary prevention. Position paper of the Working Group on Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology of the European Society of Cardiology. **European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation**, v. 10, p. 319-27, 2003.

GIL-ORTEGA, M.; CONDEZO-HOYOS, L.; GARCÍA-PRIETO, C.F.; ARRIBAS, S.M.; GONZÁLEZ, M.C.; ARANGUEZ, I.; RUIZ-GAYO, M.; SOMOZA, B.; FERNÁNDEZ-ALFONSO, M.S. Imbalance between pro and anti-oxidant mechanisms in perivascular adipose tissue aggravates long-term high-fat diet-derived endothelial dysfunction. **PLoS One**, v. 9, p. e95312, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0095312.

GIL-ORTEGA, M.; STUCCHI, P.; GUZMÁN-RUIZ, R.; CANO, V.; ARRIBAS, S.; GONZÁLEZ, M.C.; RUIZ-GAYO, M.; FERNÁNDEZ-ALFONSO, M.S.; SOMOZA, B. Adaptive nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 151, p. 3299-3306, 2010. doi: 10.1210/en.2009-1464.

GONZAGA, N.A.; AWATA, W.M.C.; DO VALE, G.T.; MARCHI, K.C.; MUNIZ, J.J.; TANUS-SANTOS, J.E.; TIRAPELLI, C.R. Perivascular adipose tissue protects against the vascular dysfunction induced by acute ethanol intake: Role of hydrogen peroxide. **Vascular Pharmacology**, v. 18, p. 30121-30126, 2018. doi: 10.1016/j.vph.2018.08.010.

GRANS, C.F.; FERIANI, D.J.; ABSSAMRA, M.E.; ROCHA, L.Y.; CARROZZI, N.M.; MOSTARDA, C.; FIGUEROA, D.M.; ANGELIS, K.D.; IRIGOYEN, M.C.; RODRIGUES, B. Resistance training after myocardial infarction in rats: its role on cardiac and autonomic function. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 103, p. 60-68, 2014.

GREEN, D.J. Exercise training as vascular medicine: direct impacts on the vasculature in humans. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 37, p. 196-202, 2009. doi: 10.1097/JES.0b013e3181b7b6e3.

GREENSTEIN, A.S.; KHAVANDI, K.; WITHERS, S.B.; SONOYAMA, K.; CLANCY, O.; JEZIORSKA, M.; LAING, I.; YATES, A.P.; PEMBERTON, P.W.; MALIK, R.A.; HEAGERTY, A.M. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. **Circulation**, v. 119, p. 1661-70, 2009. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.821181.

GÉLOËN, A.; ROY, P.E.; BUKOWIECKI, L.J. Regression of white adipose tissue in diabetic rats. **American Journal of Physiology**, v. 257, p. E547-553, 1989.

GSCHWEND, S.; HENNING, R.H.; PINTO, Y.M.; DE ZEEUW, D.; VAN GILST, W.H.; BUIKEMA, H. Myogenic constriction is increased in mesenteric resistance arteries from rats with chronic heart failure: instantaneous counteraction by acute AT1 receptor blockade. **British Journal of Pharmacology**, v. 139, p. 1317-25, 2003.

GUPTA, V.; SACHDEVA, S.; KHAN, A.S.; HAQUE, S.F. Endothelial dysfunction and inflammation in different stages of essential hypertension. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation**, v. 22, p. 97-103, 2011.

HARRISON, D.G.; CAI, H. Endothelial control of vasomotion and nitric oxide production. **Cardiology Clinics**, v. 21, p. 289-302, 2003.

HASKELL, W.L.; LEE, I.M.; PATE, R.R.; POWELL, K.E.; BLAIR, S.N.; FRANKLIN, B.A.; MACERA, C.A.; HEATH, G.W.; THOMPSON, P.D.; BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, p. 1423-34, 2007.

HAYKOWSKY, M.J.; DANIEL, K.M.; BHELLA, P.S.; SARMA, S.; KITZMAN, D.W. Heart Failure: Exercise-Based Cardiac Rehabilitation: Who, When, and How Intense? **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32, p. S382-S387, 2016. doi: 10.1016/j.cjca.2016.06.001. E

HAYKOWSKY, M.; SCOTT, J.; ESCH, B.; SCHOPFLOCHER, D.; MYERS, J.; PATERSON, I.; WARBURTON, D.; JONES, L.; CLARK, A.M. A meta-analysis of the effects of exercise training on left ventricular remodeling following myocardial infarction: start early and go longer for greatest exercise benefits on remodeling. **Trials**, v. 12, p. 92, 2011. doi: 10.1186/1745-6215-12-92.

HEIDENREICH, P.A.; ALBERT, N.M.; ALLEN, L.A.; BLUEMKE, D.A.; BUTLER, J.; FONAROW, G.C.; IKONOMIDIS, J.S.; KHAVJOU, O.; KONSTAM, M.A.; MADDOX, T.M.; et al. American Heart Association Advocacy Coordinating Committee; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Stroke Council. Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. **Circulation Heart Failure**, v. 6, p.606–619, 2013. doi: 10.1161/HHF.0b013e318291329a.

HILDEBRAND, S.; STÜMER, J.; PFEIFER, A. PVAT and Its Relation to Brown, Beige, and White Adipose Tissue in Development and Function. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 70, 2018. doi: 10.3389/fphys.2018.00070.

HORNBERGER, T.A. JR.; FARRAR, R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, p. 16-31, 2004.

HWANG, C.L.; CHIEN, C.L.; WU, Y.T. Resistance training increases 6-minute walk distance in people with chronic heart failure: a systematic review. **Journal of Physiotherapy**, v. 56, p. 87-96, 2010.

JIN, C.H.; RHYU, H.S.; KIM, J.Y. The effects of combined aerobic and resistance training on inflammatory markers in obese men. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 14, p. 660-665, 2018. doi: 10.12965/jer.1836294.147.

JONES, C.J.; KUO, L.; DAVIS, M.J.; CHILIAN, W.M. Regulation of coronary blood flow: coordination of heterogeneous control mechanisms in vascular microdomains. **Cardiovascular Research**, v. 29, p. 585-96, 1995.

JORGE, M.L.; DE OLIVEIRA, V.N.; RESENDE, N.M.; PARAISO, L.F.; CALIXTO, A.; DINIZ, A.L.; RESENDE, E.S.; ROPELLE, E.R.; CARVALHEIRA, J.B.; ESPINDOLA, F.S.; JORGE, P.T.; GELONEZE, B. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v. 60, p. 1244-52, 2011. doi: 10.1016/j.metabol.2011.01.006.

KATADA, J.; MAJIMA, M. AT₂ receptor-dependent vasodilation is mediated by activation of vascular kinin generation under flow conditions. **British Journal of Pharmacology**, v. 136, p. 484-91, 2002.

KAWANISHI, N.; YANO, H.; YOKOGAWA, Y.; SUZUKI, K. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. **Exercise immunology review**, v. 16, p. 105-18, 2010.

KETEYIAN, S.J. Exercise training in congestive heart failure: risks and benefits. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 53, p. 419-28, 2011. doi: 10.1016/j.pcad.2011.02.005.

KOBAYASI, R.; AKAMINE, E.H.; DAVEL, A.P.; RODRIGUES, M.A.; CARVALHO, C.R.; ROSSONI, L.V. Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice. **Journal of Hypertension**, v. 28, p. 2111-2119, 2010. doi: 10.1097/HJH.0b013e32833ca68c.

KÖHN, C.; SCHLEIFENBAUM, J.; SZIJÁRTÓ, I.A.; MARKÓ, L.; DUBROVSKA, G.; HUANG, Y.; GOLLASCH, M. Differential effects of cystathionine- γ -lyase-dependent vasodilatory H₂S in periadventitial vasoregulation of rat and mouse aortas. **PLoS One**, v. 7, p. e41951, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0041951.

KONG, L.R.; ZHOU, Y.P.; CHEN, D.R.; RUAN, C.C.; GAO, P.J. Decrease of Perivascular Adipose Tissue Browning Is Associated With Vascular Dysfunction in

Spontaneous Hypertensive Rats During Aging. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 400, 2018. doi: 10.3389/fphys.2018.00400.

KONRADI, J.; MOLLENHAUER, M.; BALDUS, S.; KLINKE, A. Redox-sensitive mechanisms underlying vascular dysfunction in heart failure. **Free Radical Research**, v. 49, p. 721-42, 2015.

KOVAČIĆ, S.; PLAZONIĆ, Ž.; BATINAC, T.; MILETIĆ, D.; RUŽIĆ, A. Endothelial dysfunction as assessed with magnetic resonance imaging - A major determinant in chronic heart failure. **Medical Hypotheses**, v. 90, p. 76-78, 2016. doi: 10.1016/j.mehy.2016.03.006.

KUBO, S.H.; RECTOR, T.S.; BANK, A.J.; WILLIAMS, R.E.; HEIFETZ, S.M. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. **Circulation**, v. 84, p. 1589-1596, 1991.

LAVIE, C.J.; ARENA, R.; SWIFT, D.L.; JOHANNSEN, N.M.; SUI, X.; LEE, D.C.; EARNEST, C.P.; CHURCH, T.S.; O'KEEFE, J.H.; MILANI, R.V.; BLAIR, S.N. Exercise and the cardiovascular system: clinical science and cardiovascular outcomes. **Circulation Research**, v. 117, p. 207-19, 2015. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305205.

LAVIE, C.J.; THOMAS, R.J.; SQUIRES, R.W.; ALLISON, T.G.; MILANI, R.V. Exercise training and cardiac rehabilitation in primary and secondary prevention of coronary heart disease. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 84, p. 373-83, 2009. doi: 10.1016/S0025-6196(11)60548-X.

LEDOUX, J.; GEE, D.M.; LEBLANC, N. Increased peripheral resistance in heart failure: new evidence suggests an alteration in vascular smooth muscle function. **British journal of pharmacology**, v. 139, p. 1245-8, 2003.

LEE, R.M.; BADER, M.; ALENINA, N.; SANTOS, R.A.; GAO, Y.J.; LU, C. Mas receptors in modulating relaxation induced by adipose tissue. **Life Science**, v. 89, p. 467-472, 2011a. doi: 10.1016/j.lfs.2011.07.016.

LEE, R.M.; LU, C.; SU, L.Y.; GAO, Y.J. Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. **Journal of Hypertension**, v. 27, p. 782-790, 2009. doi:10.1097/HJH.0b013e328324ed86.

LEE, Y.C.; CHANG, H.H.; CHIANG, C.L.; LIU, C.H.; YEH, J.I.; CHEN, M.F.; CHEN, P.Y.; KUO, J.S.; LEE, T.J. Role of perivascular adipose tissue-derived methyl palmitate in vascular tone regulation and pathogenesis of hypertension. **Circulation**, v. 124, p. 1160-1171, 2011b. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.027375.

LEMO, V.S.; CÔRTEZ, S.F.; SILVA, D.M.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SANTOS, R.A. Angiotensin-(1-7) is involved in the endothelium-dependent modulation of phenylephrine-induced contraction in the aorta of mRen-2 transgenic rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 135, p. 1743-178, 2002.

LEON, A.S. Exercise following myocardial infarction. Current recommendations. **Sports Medicine**, v. 29, p. 301-311, 2000.

LI, J.L.; YANG, Z.; WU, S.; KONG, J. Relationship between endothelial nitric oxide synthase, insulin resistance and macrovascular disease in patients with acute myocardial infarction. **Journal of International Medical Research**, v. 40, p. 687-693, 2012.

LI, Q.X.; XIONG, Z.Y.; HU, B.P.; TIAN, Z.J.; ZHANG, H.F.; GOU, W.Y.; WANG, H.C.; GAO, F.; ZHANG, Q.J. Aging-associated insulin resistance predisposes to hypertension and its reversal by exercise: the role of vascular vasorelaxation to insulin. **Basic Research in Cardiology**, v. 104, p. 269-84, 2009. doi: 10.1007/s00395-008-0754-8.

LI, X.C.; ZHANG, J.; ZHUO, J.L. The vasoprotective axes of the renin-angiotensin system: Physiological relevance and therapeutic implications in cardiovascular, hypertensive and kidney diseases. **Pharmacological Research**, v. 125, p. 21-38, 2017. doi: 10.1016/j.phrs.2017.06.005.

LIMA, L.G.; BONARDI, J.T.M.; CAMPOS, G.O.; BERTANI, R.F.; SCHER, L.M.L.; MORIGUTI, J.C.; FERRIOLLI, E.; LIMA, N.K.C. Combined aerobic and resistance training: are there additional benefits for older hypertensive adults? **Clinics (Sao Paulo)**, v. 72, p. 363-369, 2017. doi: 10.6061/clinics/2017(06)06.

LINDESAY, G.; BÉZIE, Y.; RAGONNET, C.; DUCHATELLE, V.; DHARMASENA, C.; VILLENEUVE, N.; VAYSETTES-COURCHAY, C. Differential Stiffening between the Abdominal and Thoracic Aorta: Effect of Salt Loading in Stroke-Prone Hypertensive Rats. **Journal of Vascular Research**, v. 55, p. 144-158, 2018. doi: 10.1159/000488877.

LITTLE, R.C.; LITTLE, W.C. Cardiac preload, afterload, and heart failure. **Archives of internal medicine**, v. 142, p. 819-22, 1982.

LIU, G.; ESPINOSA, E.; OEMAR, B.S.; LÜSCHER, T.F. Bimodal effects of angiotensin II on migration of human and rat smooth muscle cells. Direct stimulation and indirect inhibition via transforming growth factor-beta 1. Arteriosclerosis, **Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 17, p. 1251-7, 1997.

LIU, Y.; LI, J.; ZHANG, Z.; TANG, Y.; CHEN, Z.; WANG, Z. Effects of exercise intervention on vascular endothelium functions of patients with impaired glucose tolerance during prediabetes mellitus. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 5, p. 1559-1565, 2013.

LÖHN, M.; DUBROVSKA, G.; LAUTERBACH, B.; LUFT, F.C.; GOLLASCH, M.; SHARMA, A.M. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. **FASEB Journal**, v. 16, p. 1057-63, 2002.

LU, C.; ZHAO, A.X.; GAO, Y.J.; LEE, R.M. Modulation of vein function by perivascular adipose tissue. **European Journal of Pharmacology**, v. 657, p. 111-116, 2011b. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.12.028.

LU, C.; SU, L.Y.; LEE, R.M.; GAO, Y.J. Alterations in perivascular adipose tissue structure and function in hypertension. **European Journal of Pharmacology**, v. 656, p. 68-73, 2011a. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.01.023.

LU, C.; SU, L.Y.; LEE, R.M.; GAO, Y.J. Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte-derived angiotensin II. **European Journal of Pharmacology**, v. 634, p. 107-12, 2010. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.02.006.

LU, H.; BOUSTANY-KARI, C.M.; DAUGHERTY, A.; CASSIS, L.A. Angiotensin II increases adipose angiotensinogen expression. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 292, p. E1280-7, 2007.

MA, L.; MA, S.; HE, H.; YANG, D.; CHEN, X.; LUO, Z.; LIU, D.; ZHU, Z. Perivascular fat-mediated vascular dysfunction and remodeling through the AMPK/mTOR pathway in high-fat diet-induced obese rats. **Hypertension Research**, v. 33, p. 446-53, 2010. doi: 10.1038/hr.2010.11.

MACARI, D.; BOTTARI, S.; WHITEBREAD, S.; DE GASPARO, M.; LEVENS, N. Renal actions of the selective angiotensin AT₂ receptor ligands CGP 42112B and PD 123319 in the sodium-depleted rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 249, p. 85-93, 1993.

MAEDER, M.T.; MARIANI, J.A.; KAYE, D.M. Hemodynamic determinants of myocardial B-type natriuretic peptide release: relative contributions of systolic and diastolic wall stress. **Hypertension**, v. 56, p. 682-9, 2010.

MAIORANA, A.; O'DRISCOLL, G.; DEMBO, L.; CHEETHAM, C.; GOODMAN, C.; TAYLOR, R.; GREEN, D. Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 279, p. H1999-2005, 2000.

MALINOWSKI, M.; DEJA, M.A.; GOŁBA, K.S.; ROLEDER, T.; BIERNAT, J.; WOŚ S. Perivascular tissue of internal thoracic artery releases potent nitric oxide and prostacyclin-independent anticontractile factor. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, v. 33, p. 225-231, 2008.

MARCHESI, C.; EBRAHIMIAN, T.; ÂNGULO, O.; PARADIS, P.; SCHIFFRIN, E.L. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome. **Hypertension**, v. 54, p. 1384-92, 2009. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.138305.

MAENHAUT, N.; BOYDENS, C.; VAN DE VOORDE, J. Hypoxia enhances the relaxing influence of perivascular adipose tissue in isolated mice aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 641, p. 207-12, 2010. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.05.058.

MANKA, D.; CHATTERJEE, T.K.; STOLL, L.L.; BASFORD, J.E.; KONANIAH, E.S.; SRINIVASAN, R.; BOGDANOV, V.Y.; TANG, Y.; BLOMKALNS, A.L.; HUI, D.Y.;

WEINTRAUB, N.L. Transplanted perivascular adipose tissue accelerates injury-induced neointimal hyperplasia: role of monocyte chemoattractant protein-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 34, p. 1723-30, 2014. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303983.

MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Vasoactive effects of prostaglandins from the perivascular fat of mesenteric resistance arteries in WKY and SHROB rats. *Life Science*, v. 93, p. 1023-1032, 2013. doi: 10.1016/j.lfs.2013.10.021.

MILL, J.G.; GOMES, A.P.; CARRARA, A.B.; GOMES, M.G.; VASSALLO, D.V. Influence of chronic captopril therapy on the mechanical performance of the infarcted rat heart. *Pharmacological Research*, v. 29, p. 77-88, 1994.

MILL, J. G.; STEFANON, I.; LEITE, C. M.; VASSALLO, D. V. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research*, v. 24, p. 748-753, 1990.

MINICUCCI, M.F.; AZEVEDO, P.S.; POLEGATO, B.F.; PAIVA, S.A.; ZORNOFF, L.A. Heart failure after myocardial infarction: clinical implications and treatment. *Clinical Cardiology*, v. 34, p. 410-414, 2011. doi: 10.1002/clc.20922.

MONCADA, S. Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity. *Journal of laboratory and clinical medicine*, v. 120, p. 187-91, 1992.

MONCADA, S.; HERMAN, A.G.; HIGGS, E.A.; VANE, J.R. Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the anti-thrombotic properties of vascular endothelium. *Thrombosis Research*, v. 11, p. 323-44, 1977.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, v. 43, p. 109-42, 1991.

MONTEZANO, A.C.; NGUYEN DINH CAT, A.; RIOS, F.J.; TOUYZ, R.M. Angiotensin II and vascular injury. *Current Hypertension Reports*, v. 16, p. 431, 2014.

MOZAFFARIAN, D.; BENJAMIN, E.J.; GO, A.S.; ARNETT, D.K.; BLAHA, M.J.; CUSHMAN, M.; DAS, S.R.; DE FERRANTI, S.; DESPRÉS, J.P.; FULLERTON, H.J.; HOWARD, V.J.; HUFFMAN, M.D.; ISASI, C.R.; JIMÉNEZ, M.C.; JUDD, S.E.; KISSELA, B.M.; LICHTMAN, J.H.; LISABETH, L.D.; LIU, S.; MACKAY, R.H.; MAGID, D.J.; MCGUIRE, D.K.; MOHLER, E.R.; RD MOY, C.S.; MUNTNER, P.; MUSSOLINO, M.E.; NASIR, K.; NEUMAR, R.W.; NICHOL, G.; PALANIAPPAN, L.; PANDEY, D.K.; REEVES, M.J.; RODRIGUEZ, C.J.; ROSAMOND, W.; SORLIE, P.D.; STEIN, J.; TOWFIGHI, A.; TURAN, T.N.; VIRANI, S.S.; WOO, D.; YEH, R.W.; TURNER, M.B. American Heart Association Statistics Committee; Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, v. 133, p. 38-360, 2016. doi: 10.1161/CIR.0000000000000350.

MSHAIK, R.; TCHATCHAT L.; ROY, J.; GUIHOT, A.L.; VESSIERS, E.; BARBELIVIEN, A.; FASSOT, C.; LOUFRANI, L.; CUSTAUD, M.A.; HENRION, D.

The angiotensin II type 2 receptor promotes perivascular adipose tissue-dependent dilation in type 2 diabetic female mice and contraction in healthy mice. **Archives of Cardiovascular Diseases Supplements**, v. 10, p. 234, 2018. doi.org/10.1016/j.acvdsp.2018.02.127

MULLER, C.; ENDLICH, K.; BARTHELMEBS, M.; HELWIG, J.J. AT₂-antagonist sensitive potentiation of angiotensin II-induced vasoconstrictions by blockade of nitric oxide synthesis in rat renal vasculature. **British Journal of Pharmacology**, v. 122, p. 1495-501, 1997.

MUÑOZ-DURANGO, N.; FUENTES, C.A.; CASTILLO, A.E.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, L.M.; VECCHIOLA, A.; FARDELLA, C.E.; KALERGIS, A.M. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. E797, 2016. doi: 10.3390/ijms17070797.

NØHR, M.K.; BOBBA, N.; RICHELSEN, B.; LUND, S.; PEDERSEN, S.B. Inflammation Downregulates UCP1 Expression in Brown Adipocytes Potentially via SIRT1 and DBC1 Interaction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. E1006, 2017. doi: 10.3390/ijms18051006.

NAKAMURA, M.; ARAKAWA, N.; YOSHIDA, H.; SAITOH, S.; KON, H.; HIRAMORI, K. Blunted peripheral vasodilatory response is a hallmark of progressive deterioration in mild to moderate congestive heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 7, p. 38-44, 2001.

NUNES, R.B.; TONETTO, M.; MACHADO, N.; CHAZAN, M.; HECK, T.G.; VEIGA, A.B.; DALL'AGO, P. Physical exercise improves plasmatic levels of IL-10, left ventricular end-diastolic pressure, and muscle lipid peroxidation in chronic heart failure rats. **Journal of Applied Physiology** (1985), v. 104, p. 1641-7, 2008. doi: 10.1152/japphysiol.00062.2008.

O'CONNOR, C.M.; WHELLAN, D.J.; LEE, K.L.; KETEYIAN, S.J.; COOPER, L.S.; ELLI, S.J.; LEIFER, E.S.; KRAUS, W.E.; KITZMAN, D.W.; BLUMENTHAL, J.A.; RENDALL, D.S.; MILLER, N.H.; FLEG, J.L.; SCHULMAN, K.A.; MCKELVIE, R.S.; ZANNAD, F.; PIÑA, I.L.; HF-ACTION Investigators. Efficacy and safety of exercise training in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 301, p. 1439-50, 2009. doi: 10.1001/jama.2009.454.

OKAMATSU-OGURA, Y.; FUKANO, K.; TSUBOTA, A.; UOZUMI, A.; TERAOKA, A.; KIMURA, K.; SAITO, M. Thermogenic ability of uncoupling protein 1 in beige adipocytes in mice. **PLoS One**, v. 8, p. e84229, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0084229.

OLOYO, A.K.; ELIAS, S.O.; SOFOLA, O.A. Differential responses to endothelial-dependent relaxation of the thoracic and abdominal aorta from male Sprague-Dawley rats. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 27, p.117-22, 2012.

OWENS, G.K.; KUMAR, M.S.; WAMHOFF, B.R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. **Physiological Reviews**, v. 84, p. 767-801, 2004.

OTTAVIANI, E.; MALAGOLI, D.; FRANCESCHI, C. The evolution of the adipose tissue: a neglected enigma. **General and Comparative Endocrinology**, v. 174, p. 1-4, 2011. doi:10.1016/j.ygcen.2011.06.018.

OZEN, G.; TOPAL, G.; GOMEZ, I.; GHORRESHI, A.; BOUKAIS, K.; BENYAHIA, C.; KANYINDA, L.; LONGROIS, D.; TESKIN, O.; UYDES-DOGAN, B.S.; NOREL, X. Control of human vascular tone by prostanoids derived from perivascular adipose tissue. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 107, p. 13-17, 2013. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2013.06.002.

PADILLA, J.; JENKINS, N.T.; VIEIRA-POTTER, V.J.; LAUGHLIN, M.H. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. **American Journal of Physiology- Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, p. R543-552, 2013. doi: 10.1152/ajpregu.00567.2012.

PADILLA, J.; LÓPEZ, R.M.; LÓPEZ, P.; CASTILLO, M.C.; QUEREJETA, E.; RUIZ, A.; CASTILLO, E.F. Inhibition of PKC-dependent extracellular Ca²⁺ entry contributes to the depression of contractile activity in long-term pressure-overloaded endothelium-denuded rat aortas. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, p. 789-798, 2014.

PALOU, A.; PICÓ, C.; BONET, M.L.; OLIVER, P. The uncoupling protein, thermogenin. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 30, p. 7-11, 1998.

PANZA, J.A.; QUYYUMI, A.A.; BRUSH, J.E. JR.; EPSTEIN, S.E. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 22-27, 1990.

PAUL, M.; POYAN MEHR, A.; KREUTZ, R. Physiology of local renin angiotensin systems. **Physiological Reviews**, v. 86, p. 747-803, 2006.

PAULA, S.M. Treinamento físico aeróbico reverte o edema periférico, restaura o tônus miogênico e o remodelamento vascular em artéria tibial caudal de ratos com insuficiência cardíaca. [Tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2017.

PEARSON, M.J.; SMART, N.A. Aerobic Training Intensity for Improved Endothelial Function in Heart Failure Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cardiology Research and Practice**, 2017:2450202. doi: 10.1155/2017/2450202.

PERAZZA, L.R.; COUTO, G.K.; ROSSONI, L.V. Avaliação da vasodilatação dependente do endotélio em anéis de aorta e veia cava de ratos submetidos ao infarto do miocárdio. In: XXVIII Reunião Anual da FeSBE, 2013, Caxambu - MG. XXVIII Reunião Anual da FeSBE. São Paulo: FeSBE, 2013. v. 1. p. 43-43.

PEREIRA, R.B.; SARTÓRIO, C.L.; VASSALLO, D.V.; STEFANON, I. Differences in tail vascular bed reactivity in rats with and without heart failure following myocardial infarction. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 312, p. 1321-1325, 2005.

PIEPOLI, M.F.; CONRAADS, V.; CORRÀ, U.; DICKSTEIN, K.; FRANCIS, D.P.; JAARSMA, T.; MCMURRAY, J.; PIESKE, B.; PIOTROWICZ, E.; SCHMID, J.P.; ANKER, S.D.; SOLAL, A.C.; FILIPPATOS, G.S.; HOES, A.W.; GIELEN, S.; GIANNUZZI, P.; PONIKOWSKI, P.P. Exercise training in heart failure: from theory to practice. A consensus document of the Heart Failure Association and the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. **European Journal of Heart Failure**, v. 13, p. 347-57, 2011. doi: 10.1093/eurjhf/hfr017.

PIERCY, K.L.; TROIANO, R.P.; BALLARD, R.M.; CARLSON, S.A.; FULTON, J.E.; GALUSKA, D.A.; GEORGE, S.M.; OLSON, R.D. The Physical Activity Guidelines for Americans. **Journal of the American Medical Association**, 2018. doi: 10.1001/jama.2018.14854.

PFEFFER, J.M.; PFEFFER, M.A.; BRAUNWALD, E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. **Circulation Research**, v. 57, p. 84-95, 1995.

PFEFFER, M.A.; PFEFFER, J.M.; FISHBEIN, M.C.; FLETCHER, P.J.; SPADARO, J.; KLONER, R.A.; BRAUNWALD, E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circulation Research**, v. 44, p. 503-12, 1979.

PFEFFER, M.A.; PFEFFER, J.M.; STEINBERG, C.; FINN, P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. **Circulation**, v. 72, p. 406-12, 1995.

POLLOCK, M.L.; FRANKLIN, B.A.; BALADY, G.J.; CHAITMAN, B.L.; FLEG, J.L.; FLETCHER, B.; LIMACHER, M.; PIÑA, I.L.; STEIN, R.A.; WILLIAMS, M.; BAZZARRE, T. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. **Circulation**, v. 101, p. 828-33, 2000.

PONIKOWSKI, P.; VOORS, A.A.; ANKER, S.D.; BUENO, H.; CLELAND, J.G.; COATS, A.J.; FALK, V.; GONZÁLEZ-JUANATEY, J.R.; HARJOLA, V.P.; JANKOWSKA, E.A.; JESSUP, M.; LINDE, C.; NIHOYANNOPOULOS, P.; PARISSIS, J.T.; PIESKE, B.; RILEY, J.P.; ROSANO, G.M.; RUILOPE, L.M.; RUSCHITZKA, F.; RUTTEN, F.H.; VAN, D.E.R.; MEER, P.; Authors/Task Force Members. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **European Heart Journal**, v. 37, p. 2129-200, 2016. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128.

POOLE, D.C.; HIRAI, D.M.; COPP, S.W.; MUSCH, T.I. Muscle oxygen transport and utilization in heart failure: implications for exercise (in)tolerance. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 302, p. H1050-63, 2012. doi: 10.1152/ajpheart.00943.2011.

PRASAD, K.; KALRA, J. Oxygen free radicals and heart failure. **Angiology**, v. 39, p. 417-420, 1988.

QUINN, S.J.; WILLIAMS, G.H. Regulation of aldosterone secretion. **Annual Review Of Physiology**, v. 50, p. 409-26, 1988.

REIFENBERGER, M.S.; TURK, J.R.; NEWCOMER, S.C.; BOOTH, F.W.; LAUGHLIN, M.H. Perivascular fat alters reactivity of coronary artery: effects of diet and exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, p. 2125-2134, 2007.

RITTIG, K.; STAIB, K.; MACHANN, J.; BÖTTCHER, M.; PETER, A.; SCHICK, F.; CLAUSSEN, C.; STEFAN, N.; FRITSCHKE, A.; HÄRING, H.U.; BALLETSCHOFER, B. Perivascular fatty tissue at the brachial artery is linked to insulin resistance but not to local endothelial dysfunction. **Diabetologia**, v. 51, p. 2093-2099, 2008. doi: 10.1007/s00125-008-1128-3.

ROCHA-RODRIGUES, S.; RODRÍGUEZ, A.; GOUVEIA, A.M.; GONÇALVES, I.O.; BECERRIL, S.; RAMÍREZ, B.; BELEZA, J.; FRÜHBECK, G.; ASCENSÃO, A.; MAGALHÃES, J. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. **Life Science**, v. 165, p. 100-108, 2016. doi: 10.1016/j.lfs.2016.09.023.

ROMERO-CALVO, I.; OCÓN, B.; MARTÍNEZ-MOYA, P.; SUÁREZ, M.D.; ZARZUELO, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; DE MEDINA, F.S. Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Analytical Biochemistry**, v. 401, p. 318-20, 2010. doi: 10.1016/j.ab.2010.02.036.

ROSEI, C.A.; WITHERS, S.B.; BELCAID, L.; DE CIUCEIS, C.; RIZZONI, D.; HEAGERTY, A.M. Blockade of the renin-angiotensin system in small arteries and anticontractile function of perivascular adipose tissue. **Journal of Hypertension**, v. 33, p. 1039-1045, 2015. doi: 10.1097/HJH.0000000000000506.

ROSSONI, L. V.; XAVIER, F. E.; MOREIRA, C. M.; FALCOCHIO, D.; AMANSO, A. M.; TANOUE, C. U.; CARVALHO, C. R.; VASSALLO, D. V. Ouabain-induced hypertension enhances left ventricular contractility in rats. **Life Sciences**, v. 76, p. 1537-1545, 2006.

RUIZ-ORTEGA, M.; RUPEREZ, M.; ESTEBAN, V.; EGIDO, J. Molecular mechanisms of angiotensin II-induced vascular injury. **Current Hypertension Reports**, v. 5, p. 73-9, 2003.

SAELY, C.H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. **Gerontology**, v. 58, p. 15-23, 2012. doi: 10.1159/000321319.

SAKURAI, T.; IZAWA, T.; KIZAKI, T.; OGASAWARA, J.E.; SHIRATO, K.; IMAIZUMI, K.; TAKAHASHI, K.; ISHIDA, H.; OHNO, H. Exercise training decreases expression of inflammation-related adipokines through reduction of oxidative stress in rat white adipose tissue. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 379, p. 605-609, 2009. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.12.127.

SANCHES, I.C.; BUZIN, M.; CONTI, F.F.; DIAS, D.D.S.; SANTOS, C.P.D.; SIRVENTE, R.; SALEMI, V.M.C.; LLESUY, S.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Combined aerobic and resistance exercise training attenuates cardiac dysfunctions in a model of diabetes and menopause. **PLoS One**, v. 13, p. e0202731, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0202731.

SANCHES, I.C.; CONTI, F.F.; SARTORI, M.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Standardization of resistance exercise training: effects in diabetic ovariectomized rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 35, p. 323-9, 2014. doi: 10.1055/s-0033-1351254.

SANCHES, I.C.; CONTI, F.F.; BERNARDES, N.; BRITO, J.D.E.O.; GALDINI, E.G.; CAVAGLIERI, C.R.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Impact of combined exercise training on cardiovascular autonomic control and mortality in diabetic ovariectomized rats. **Journal of Applied Physiology** (1985), v. 119, p. 656-62, 2015. doi: 10.1152/jappphysiol.00883.2014. Ep

SANTOS, R.A.; FERREIRA, A.J.; VERANO-BRAGA, T.; BADER, M. Angiotensin-converting enzyme2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system. **Journal of Endocrinology**, v. 216, p. R1-R17, 2013. doi: 10.1530/JOE-12-0341.

SANTOS, R.A.; KRIEGER, E.M.; GREENE, L.J. An improved fluorometric assay of rat serum and plasma converting enzyme. **Hypertension**, v. 7, p. 244-52 1985.

SANTOS, R.A.S.; SAMPAIO, W.O.; ALZAMORA, A.C.; MOTTA-SANTOS, D.; ALENINA, N.; BADER, M.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). **Physiological Reviews**, v. 98, p. 505-553, 2018. doi: 10.1152/physrev.00023.2016.

SANTOS, R.A.; SIMOES, E.; SILVA, A.C.; MARIC, C.; SILVA, D.M.; MACHADO, R.P.; DE BUHR, I.; HERINGER-WALTHER, S.; PINHEIRO, S.V.; LOPES, M.T.; BADER, M.; MENDES, E.P.; LEMOS, V.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SCHULTHEISS, H.P.; SPETH, R.; WALTHER, T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, p. 8258-63, 2003.

SAXTON, S.N.; RYDING, K.E.; ALDOUS, R.G.; WITHERS, S.B.; OHANIAN, J.; HEAGERTY, A.M. Role of Sympathetic Nerves and Adipocyte Catecholamine Uptake in the Vasorelaxant Function of Perivascular Adipose Tissue. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 38, p. 880-891, 2018. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.310777.

SCHÄFER, A.; FRACCAROLLO, D.; TAS, P.; SCHMIDT, I.; ERTL, G.; BAUERSACHS, J. Endothelial dysfunction in congestive heart failure: ACE inhibition vs. angiotensin II antagonism. **European Journal of Heart Failure**, v. 6, p. 151-159, 2004.

SCHIEFFER, B.; WIRGER, A.; MEYBRUNN, M.; SEITZ, S.; HOLTZ, J.; RIEDE, U.N.; DREXLER, H. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. **Circulation**, v. 89, p. 2273-82, 1994.

SCHILLER, N.B.; SHAH, P.M.; CRAWFORD, M.; DEMARIA, A.; DEVEREUX, R.; FEIGENBAUM, H.; GUTGESELL, H.; REICHEK, N.; SAHN, D.; SCHNITTGER, I.; et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 2, p. 358-67, 1989.

SCHINZARI, F.; TESAURO, M.; CARDILLO, C. Adiposo Endotelial e Perivascular Anormalidades Teciduais na Disfunção Vascular Relacionada à Obesidade: Novas Metas para Tratamento. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 69, p. 360-368, 2017. doi: 10.1097 / FJC.0000000000000469.

SCHLEIFENBAUM, J.; KÖHN, C.; VOBLOVA, N.; DUBROVSKA, G.; ZAVARIRSKAYA, O.; GLOE, T.; CREAN, C.S.; LUFT, F.C.; HUANG, Y.; SCHUBERT, R.; GOLLASCH, M. Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and hydrogen sulfide. **Journal of Hypertension**, v 2010 Sep;28(9):1875-82. doi: 10.1097/HJH.0b013e32833c20d5.

SENBONMATSU, T.; ICHIHARA, S.; PRICE, E. JR.; GAFFNEY, F.A.; INAGAMI, T. Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload. **Journal of Clinical Investigation**, v. 106, p. R1-5, 2000.

SHEPHERD, J.T.; VANHOUTTE, P.M. The Human Cardiovascular System: Facts and Concepts. **Journal of Anatomy**, v. 132, 437, 1979.

SHIMOJO, G.L.; DA SILVA DIAS, D.; MALFITANO, C.; SANCHES, I.C.; LLESUY, S.; ULLOA, L.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Combined Aerobic and Resistance Exercise Training Improve Hypertension Associated With Menopause. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 1471. doi:10.3389/fphys.2018.01471

SINGAL, P.K.; KIRSHENBAUM, L.A. A relative deficit in antioxidant reserve may contribute in cardiac failure. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 6, p. 47-9, 1990.

SOLTIS, E.E.; CASSIS, L.A. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 13, p. 277-96, 1991.

STASSEN, F.R.; FAZZI, G.E.; LEENDERS, P.J.; SMITS, J.F.; DE MEY, J.G. Coronary arterial hyperreactivity and mesenteric arterial hyporeactivity after myocardial infarction in the rat. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 29, p. 780-8, 1997.

STEINBERG, H.O.; CHAKER, H.; LEAMING, R.; JOHNSON, A.; BRECHTEL, G.; BARON, A.D. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 2601-10, 1996.

SUN, X.; HOU, N.; HAN, F.; GUO, Y.; HUI, Z.; DU, G.; ZHANG, Y. Effect of high free fattyacids on the anti-contractile response of perivascular adipose tissue in rat aorta. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 63, p. 169-74, 2013. doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.07.018.

SZASZ, T.; WEBB, R.C. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. **Clinical science (London)**, v. 122, p. 1-12, 2012. doi: 10.1042/CS20110151.

TAVARES, F.M.; DA SILVA, I.B.; GOMES, D.A.; BARRETO-CHAVES, M.L. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) is associated with increased tolerance of the hyperthyroid heart to ischemia-reperfusion. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 27, p. 393-402, 2013. doi: 10.1007/s10557-013-6473-x.

TEERLINK, J.R.; CLOZEL, M.; FISCHLI, W.; CLOZEL, J.P. Temporal evolution of endothelial dysfunction in a rat model of chronic heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 22, p. 615-20, 1993.

THATCHER, S.; YIANNIKOURIS, F.; GUPTE, M.; CASSIS, L. The adipose renin-angiotensin system: role in cardiovascular disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 302, p. 111-7, 2009.

THOMPSON, P.D. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, p. 1319-21, 2003.

TIGERSTEDT, R.; BERGMAN, P. Niere und Kreislauf. **Scandinavian Archives of Physiology** (Germany), v. 8, p. 223–271, 1898.

VAN HINSBERGH, V.W. Endothelium--role in regulation of coagulation and inflammation. **Seminars in Immunopathology**, v. 34, p. 93-106, 2012. doi: 10.1007/s00281-011-0285-5.

VANDERHEYDEN, M.; GOETHALS, M.; VERSTREKEN, S.; DE BRUYNE, B.; MULLER, K.; VAN SCHUERBEECK, E.; BARTUNEK, J. Wall stress modulates brain natriuretic peptide production in pressure overload cardiomyopathy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 44, p. 2349-54, 2004.

VELKOSKA, E; DEAN, R.G.; GRIGGS, K.; BURCHILL, L.; BURRELL, L.M. Angiotensin-(1-7) infusion is associated with increased blood pressure and adverse cardiac remodelling in rats with subtotal nephrectomy. **Clinical Science (Lond)**, v. 120, p. 335-45, 2011. doi: 10.1042/CS20100280.

VERLOHREN, S.; DUBROVSKA, G.; TSANG, S.Y.; ESSIN, K.; LUFT, F.C.; HUANG, Y.; GOLLASCH, M. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. **Hypertension**, v. 44, p. 271-276, 2004.

VICTORIO, J.A.; CLERICI, S.P.; PALACIOS, R.; ALONSO, M.J.; VASSALLO, D.V.; JAFFE, I.Z.; ROSSONI, L.V.; DAVEL, A.P. Spironolactone Prevents Endothelial Nitric Oxide Synthase Uncoupling and Vascular Dysfunction Induced by β -Adrenergic Overstimulation: Role of Perivascular Adipose Tissue. **Hypertension**, v. 68, p. 726-35, 2016b. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07911.

VICTORIO, J.A.; FONTES, M.T.; ROSSONI, L.V.; DAVEL, A.P. Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 295, 2016b. doi: 10.3389/fphys.2016.00295.

VONA, M.; ROSSI, A.; CAPODAGLIO, P.; RIZZO, S.; SERVI, P.; DE MARCHI, M.; COBELLI, F. Impact of physical training and detraining on endothelium-dependent vasodilation in patients with recent acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 147, p. 1039-46, 2004.

WALSH, J.H.; BILSBOROUGH, W.; MAIORANA, A.; BEST, M.; O'DRISCOLL, G.J.; TAYLOR, R.R.; GREEN, D.J. Exercise training improves conduit vessel function in patients with coronary artery disease. **Journal of Applied Physiology** (1985), v. 95, p. 20-5, 2003.

WANG, Y.; WANG, S.; WIER, W.G.; 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 of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 299, p. H2097-2106, 2010. doi: 10.1152/ajpheart.00701.2010.

WATTS, S.W.; SHAW, S.; BURNETT, R.; DORRANCE, A.M. Indoleamine 2,3-dioxygenase in periaortic fat: mechanisms of inhibition of contraction. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, p. H1236-47, 2011. doi: 10.1152/ajpheart.00384.2011.

WERNER, C.; BAUMHÄKEL, M.; TEO, K.K.; SCHMIEDER, R.; MANN, J.; UNGER, T.; YUSUF, S.; BÖHM, M. RAS blockade with ARB and ACE inhibitors: current perspective on rationale and patient selection. **Clinical Research in Cardiology**, v. 97, p. 418-31, 2008. doi: 10.1007/s00392-008-0668-3.

WESTCOTT, E.B.; SEGAL, S.S. Perivascular innervation: a multiplicity of roles in vasomotor control and myoendothelial signaling. **Microcirculation**, 2013 Apr;20(3):217-38. doi: 10.1111/micc.12035.

WESTON, A.H.; EGNER, I.; DONG, Y.; PORTER, E.L.; HEAGERTY, A.M.; EDWARDS, G. Stimulated release of a hyperpolarizing factor (ADHF) from mesenteric artery perivascular adipose tissue: involvement of myocyte BKCa channels and

adiponectin. *British Journal of Pharmacology*, v. 169, p. 1500-9, 2013. doi: 10.1111/bph.12157.

WIEMER, G.; SCHÖLKENS, B.A.; WAGNER, A.H.; HEITSCH LINZ, W. O papel possível de receptores de subtipo AT2 de angiotensina II em células endoteliais e isquemia isolada corações de ratos. *Journal of Hypertension*, v. 11, p. S234-5, 1993.

WILLIAMS, A.D.; CAREY, M.F.; SELIG, S.; HAYES, A.; KRUM, H.; PATTERSON, J.; TOIA, D.; HARE, D.L. Circuit resistance training in chronic heart failure improves skeletal muscle mitochondrial ATP production rate--a randomized controlled trial. *Journal of Cardiac Failure*, v. 13, p. 79-85, 2007.

WISE, F.M. Exercise based cardiac rehabilitation in chronic heart failure. *Australian Family Physician*, v. 36, p. 1019-24, 2003, 2007.

XIA, N.; FÖRSTERMANN, U.; LI, H. Implication of eNOS Uncoupling in Cardiovascular Disease. *Reactive Oxygen Species*, v. 3, p. 38-46, 2017.

XIA, N.; HORKE, S.; HABERMEIER, A.; CLOSS, E.I.; REIFENBERG, G.; GERICKE, A.; MIKHED, Y.; MÜNZEL, T.; DAIBER, A.; FÖRSTERMANN, U.; LI, H. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 36, p. 78-85, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306263.

ZABORSKA, K.E.; WAREING, M.; AUSTIN, C. Comparisons between perivascular adipose tissue and the endothelium in their modulation of vascular tone. *British Journal of Pharmacology*, v. 174, p. 3388-3397, 2017. doi: 10.1111/bph.13648.

ZANCHI, N.E.; BECHARA, L.R.; TANAKA, L.Y.; DEBBAS, V.; BARTHOLOMEU, T.; RAMIRES, P.R. Moderate exercise training decreases aortic superoxide production in myocardial infarcted rats. *European Journal of Applied Physiology*, v. 104, p. 1045-1052, 2008. doi: 10.1007/s00421-008-0861-0.

ZHANG, Y.M.; LU, Y.; TANG, Y.; YANG, D.; WU, H.F.; BIAN, Z.P.; XU, J.D.; GU., C.R.; WANG, L.S.; CHEN, X.J. The effects of different initiation time of exercise training on left ventricular remodeling and cardiopulmonary rehabilitation in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Disability and Rehabilitation*, v. 38, p. 268-76, 2016. doi: 10.3109/09638288.2015.1036174.

ZENG, Z.H.; ZHANG, Z.H.; LUO, B.H.; HE, W.K.; LIANG, L.Y.; HE, C.C.; SU, C.J. The functional changes of the perivascular adipose tissue in spontaneously hypertensive rats and the effects of atorvastatin therapy. *Clinical and Experimental Hypertension*, v. 31, p. 355-63, 2009.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, v. 372, p. 425-32, 1994.

ZHOU, L.M.; SHI, Z.; GAO, J.; HAN, Y.; YUAN, N.; GAO, X.Y.; ZHU, G.Q. Angiotensin-(1-7) and angiotension II in the rostral ventrolateral medulla modulate the

cardiac sympathetic afferent reflex and sympathetic activity in rats. **Pflügers Archiv**, v. 459, p.681-8, 2010. doi: 10.1007/s00424-010-0793-5.

ZHU, Y.; LIU, L.; PENG, X.; DING, X.; YANG, G.; LI, T. Role of adenosine A2A receptor in organ-specific vascular reactivity following hemorrhagic shock in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 184, p. 951-8, 2013. doi: 10.1016/j.jss.2013.03.039.

YAMAMOTO, E.; HIRATA, Y.; TOKITSU, T.; KUSAKA, H.; SAKAMOTO, K.; YAMAMURO, M.; KAIKITA, K.; WATANABE, H.; HOKIMOTO, S.; SUGIYAMA, S.; MARUYAMA, T.; OGAWA, H. The pivotal role of eNOS uncoupling in vascular endothelial dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction. **International Journal of Cardiology**, v. 190, p. 335-7, 2015. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.04.162.

YAN, C.; KIM, D.; AIZAWA, T.; BERK, BC. Functional interplay between angiotensin II and nitric oxide: cyclic GMP as a key mediator. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, p. 26-36, 2003.

YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; TOMOBE, Y.; KOBAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YAZAKI, Y.; GOTO, K.; MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, v. 332, p. 411-5, 1988.

YANCY, C.W.; JESSUP, M.; BOZKURT, B.; BUTLER, J.; CASEY, D.E. JR.; COLVIN, M.M.; DRAZNER, M.H.; FILIPPATOS, G.S.; FONAROW, G.C.; GIVERTZ, M.M.; HOLLENBERG, S.M.; LINDENFELD, J.; MASOUDI, F.A.; MCBRIDE, P.E.; PETERSON, P.N.; STEVENSON, L.W.; WESTLAKE, C. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. **Circulation**, v. 136, p. e137-e161, 2017. doi: 10.1161/CIR.0000000000000509.