

Suliana Mesquita Paula

**TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO REVERTE O EDEMA
PERIFÉRICO, RESTAURA O TÔNUS MIOGÊNICO E O
REMODELAMENTO VASCULAR
EM ARTÉRIA TIBIAL CAUDAL DE RATOS COM
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**

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
2017

Suliana Mesquita Paula

**TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO REVERTE O EDEMA
PERIFÉRICO, RESTAURA O TÔNUS MIOGÊNICO E O
REMODELAMENTO VASCULAR
EM ARTÉRIA TIBIAL CAUDAL DE RATOS COM
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**

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
2017

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)

PAULA, SULIANA

Treinamento físico aeróbio reverte o edema periférico, restaura o tônus miogênico e o remodelamento vascular em artéria tibial caudal de ratos com insuficiência cardíaca / SULIANA PAULA; orientadora Luciana Venturini Rossoni. -- São Paulo, 2017.

119 p.

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

1. Insuficiência cardíaca. 2. Treinamento físico. 3. Edema periférico. 4. Resposta miogênica. 5. Sensibilidade ao cálcio. I. Venturini Rossoni, Luciana, orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Suliana Mesquita Paula.

Título da Tese: Treinamento físico aeróbio reverte o edema periférico, restaura o tônus miogênico e o remodelamento vascular em artéria tibial caudal de ratos com insuficiência cardíaca.

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:

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 **071** nas fls. **104** do livro **02** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) **Luciana Venturini Rossoni**, Coordenador(a) da Linha de pesquisa *"Efeitos do treinamento físico sobre a função e estrutura vascular em artérias femoral e coronária de ratos com insuficiência cardíaca: Papel da angiotensina II"* do qual participam o(s) alunos **Gisele Kruger Couto, Carolina Catto, Igor Lucas Gomes dos Santos**, 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 **17.05.2011, com validade de 3 anos.**

São Paulo, 23 de maio de 2011.

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

Prof. Dr. ARIEL MARIANO SILBER
Secretário
CEUA - ICB/USP



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – Cep. 05508-900 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – e-mail: cep@icb.usp.br

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Decl. CEUA.026/2013.

DECLARAÇÃO

Em adendo ao Certificado 071/11/CEUA, datado de 17.05.11 e por solicitação da Profa. Dra. **Luciana Venturini Rossoni**, responsável pela linha de Pesquisa, autorizo a inclusão da aluna **Suliana Mesquita Paula** ao Projeto de Pesquisa "*Efeitos do treinamento físico sobre a função e estrutura vascular em artérias femoral e coronária de ratos com insuficiência cardíaca: Papel da angiotensina II*", uma vez que se trata de utilização da mesma espécie animal e de métodos experimentais similares ao Projeto.

São Paulo, 26 de março de 2013.

Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima
Coordenador da CEUA
ICB/USP



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 **118** nas fls. **24** 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 "*Efeitos do treinamento físico sobre a função e estrutura vascular em artérias femoral e coronária de ratos com insuficiência cardíaca: Papel da angiotensina II*" do qual participam o(s) aluno(s) **Suliana Mesquita de Paula**, 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 **02.12.2014**, com validade de **4 anos**.

São Paulo, 03 de dezembro de 2014.

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

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

O apoio financeiro para o presente estudo foi concedido pela agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar os meus passos.

Aos meus queridos pais Ursulino e Salete pelo carinho, apoio incondicional, compreensão e por tudo que fizeram e fazem por mim.

À Professora Luciana Venturini Rossoni, pelo empenho aplicado à minha formação, por sua tenacidade, apoio e confiança que foram essenciais para meu processo de amadurecimento científico.

À Dra. Gisele Kruger Couto e a Milene Tavares Fontes pelo auxílio que tornou possível esse trabalho.

À Professora Lisete Compagno Michelinini por gentilmente me permitir utilizar as esteiras ergométricas. Aos Professores Fernando R. Abdulkader, Rita de Cassia Aleixo Tostes Passaglia, Marinilce Fagundes dos Santos e Carla Roberta de Oliveira Carvalho por ter me cedido seus anticorpos enriquecendo, portanto, este trabalho. À Professora Soraia Pereira Costa e seu aluno Leandro Rodrigues pelo ensino da técnica da hidropletismometria.

Ao Diego Mendrot Taboas Figueroa e Camila Paixão Jordão pela realização das avaliações ecocardiográficas no Instituto do Coração (InCor).

Aos amigos Aldair Neto, Karilane Rodrigues, Rafael Jeuken e Fernanda Roque por ter ensinado cuidadosa e pacientemente o manuseio do miógrafo de pressão.

Ao amigo Tiago Fernandes por ter ensinado a dissecar cuidadosamente os músculos esqueléticos.

Aos amigos e funcionários do biotério Wilson e Cleonice pelo cuidado e zelo com os animais.

Aos amigos Regiane Cardoso Castelo Branco, Dona Maria Vaneide Cardoso (mãe da Regiane), Gabriela Reginato, Vinícius Capetini e Renato Crajoinas pelo companheirismo, pelas conversas sempre divertidas e ao mesmo tempo enriquecedoras tão importantes para nosso crescimento como cientistas e seres humanos.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vascular: Gisele, Milene, Caroline, Vanessa, Patrícia, Flávia, Thais e Aline, que, com braço forte, ajudaram ao longo processo e pela troca de conhecimento, companheirismo e momentos de descontração.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da USP pela dedicação nas aulas e pelo conhecimento que adquiri que enriqueceu meu trabalho.

Aos funcionários administrativos do Departamento de Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, em especial Leila, José Maria e Paloma, pela atenção e eficiência e aos funcionários da Biblioteca do ICB.

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e à FAPESP e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

A todos, muito obrigada.

*“Do Senhor é a terra e tudo o que ela contém,
a órbita terrestre e todos os que nela habitam”*

(Salmo de Davi, Sl 23,1).

RESUMO

PAULA, S. M. **Treinamento físico aeróbio reverte o edema periférico, restaura o tônus miogênico e o remodelamento vascular em artéria tibial caudal de ratos com insuficiência cardíaca.** 2017. 121f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome que apresenta sintomas como fadiga e intolerância ao exercício, além de sinais como edema periférico (EP). Alterações referentes à intolerância ao exercício têm sido atribuídas a modificações da musculatura esquelética (ME) e a alterações de fluxo sanguíneo, o qual se encontra atenuado na IC durante o exercício. Tem-se relatado ainda prejuízo na reatividade vascular das artérias que irrigam a ME, porém não há consenso quanto à resposta dependente do endotélio, ou quanto à constrição miogênica (CM). O prejuízo na CM acarretaria uma falha na perfusão causando aumento na pressão hidrostática capilar, levando ao surgimento de EP. Diversos estudos têm associado complicações cardiovasculares às mudanças estruturais e mecânicas arteriais, contribuindo para o agravamento da IC. Como o treinamento físico (TF) amplifica a função endotelial e a CM em indivíduos e animais saudáveis e tem reconhecido benefício sobre o sistema cardiovascular na IC, testou-se a hipótese de que a IC induz disfunção na reatividade vascular e no remodelamento em artéria tibial caudal (ATC) de ratos, e que o TF é capaz de melhorar esses parâmetros e reverter sinais como o EP. Ratos Wistar foram submetidos à oclusão da artéria coronária descendente anterior ou falso operado (SHAM). Após 4 sem., os animais foram caracterizados como IC por meio do ecocardiograma ($FE \leq 35\%$) e da quantificação do BMP plasmático ($\geq 0,3 \pm 0,02$ ng/mL), e, em seguida foram divididos em sedentários (SHAMs e ICs) e treinados (SHAMt e ICt, esteira, 5 vezes/ sem., 8 sem.). O grupo ICs apresentou uma redução da distância percorrida no teste de esforço escalonado e o TF aumentou esse parâmetro em ambos os grupos. O volume da pata, avaliado por hidropletismometria, foi maior nos ICs e o TF reverteu o mesmo para o nível observado no SHAMs. Apesar da vasodilatação à acetilcolina não estar modificada na ATC dos grupos avaliados, a CM foi deflagrada a partir de 100 mmHg nos SHAMs, abolida nos ICs, amplificada nos SHAMt e restaurada nos ICt. O inibidor da ROCK (Y-27632, 1 μ M) reduziu a CM em todos os grupos estudados. Ao se avaliar a mobilização de cálcio nas ATC, observou-se aumento da contração induzida por noradrenalina (10 μ M) em ausência de Ca^{2+} extracelular nas ATC de ICt, indicando um aumento na cinética do cálcio intracelular (Ca^{2+}_i), sem alteração no influxo de Ca^{2+} . A expressão proteica da razão SERCA-2/Fosfolambano e da ROCK II foi aumentada nas ATC dos ICt. As ATC dos ICs apresentaram aumento do diâmetro interno (D_i) sem alteração da área de secção transversa; o TF foi capaz de restaurar o D_i para o nível observado nos SHAMs. Confirmando a presente hipótese, ATC dos ICs apresentam CM prejudicada e um remodelamento eutrófico para fora que contribuem para a geração do EP. O TF foi efetivo em restaurar a CM e o remodelamento vascular em ATC, revertendo conjuntamente o EP. Os presentes resultados também sugerem que os ajustes na CM induzidos pelo TF estão associados a uma melhora na mobilização do Ca^{2+}_i e na sensibilização das proteínas contráteis.

Palavras-chave: **Insuficiência cardíaca. Treinamento físico. Edema periférico. Resposta miogênica. Cinética do cálcio. Sensibilização ao cálcio.**

ABSTRACT

PAULA, S. M. **Aerobic physical training reverses peripheral edema, restores myogenic tone and vascular remodelling in caudal tibial artery of rats with heart failure.** 2017. 221 p. Ph. D. Thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2017.

Heart failure (HF) is a syndrome that presents symptoms such as fatigue and exercise intolerance, as well as peripheral edema (PE). Exercise intolerance is associated with changes in skeletal muscle (SM) and in blood flow regulation, which is attenuated in HF during acute exercise. In addition, an impairment of vascular reactivity in arteries that feed SM has also been described, but there is no consensus regarding endothelium-dependent or myogenic constriction (MC) responses. It is well known that impairment of MC would cause, under perfusion, an increasing hydrostatic pressure at capillary levels, leading to the onset of PE. Several studies have associated cardiovascular adjustments to structural and mechanical arterial changes, contributing to the worsening of HF. As physical training (PT) enhances endothelial function and MC in healthy individuals and animals and has been recognized for its beneficial effects on the cardiovascular system in HF, it was hypothesized that HF induces dysfunction in vascular reactivity and remodelling in caudal tibial artery (CTA) of rats, and that PT is able to improve these parameters and revert PE. Male Wistar rats were submitted to occlusion of coronary artery or false operated (SHAM). After 4 weeks, the animals were characterized as HF by echocardiogram (ejection fraction $\leq 35\%$) and quantification of plasma BNP ($\geq 0.3 \pm 0.02$ ng/mL), and then divided into sedentary (SHAMs and HF) and trained (SHAMt and HFt, treadmill, 5 times/ week, 8 weeks). The HF group presented a reduction of the distance covered in the maximum exercise test and the PT increased this parameter in both groups. Paw volume, measured by hydroplethysmometry, was higher in the HF and the PT reverted. Although vasodilation-induced by acetylcholine was not modified in the CTA among groups, MC was triggered at 100 mmHg in SHAMs, abolished in HF, amplified in SHAMt and restored in HFt. ROCK inhibitor (Y-27632, 1 μ M) reduced MC in all groups studied. Calcium (Ca^{2+}) mobilization was evaluated in CTA, noradrenaline (10 μ M)-induced contraction in the absence of extracellular Ca^{2+} was higher in HFt, indicating an increase in intracellular calcium (Ca^{2+}_i) kinetics, without changes in Ca^{2+} inflow. SERCA-2/Phospholamban ratio and ROCK II protein expression were increased in the CTA of the HF. CTA of HF showed increase of the internal diameter (D_i) without cross section area alteration; PT was able to restore D_i to SHAMs level. In line with the present hypothesis, CTA of HF has impaired MC and an outward eutrophic remodelling that contribute to the PE. PT was effective to restore MC and vascular remodelling in CTA and to reverse the PE. In addition, MC adjustments induced by TF are associated with an improvement in Ca^{2+} mobilization and contractile proteins sensitization.

Keywords: Heart failure. Physical training. Peripheral edema. Myogenic response. Calcium kinetics. Calcium sensitization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Animais durante o treinamento físico em esteira rolante	36
Figura 2 - Pletismometria	37
Figura 3 - Experimentos realizados no miógrafo de arame	42
Figura 4 - Experimento realizado no miógrafo de pressão.....	46
Figura 5 - Organograma de sobrevivência e mortalidade dos grupos experimentais	50
Figura 6 - Correlação entre a área de infarto e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo	52
Figura 7 - BNP plasmático e ganho de peso corporal	52
Figura 8 - Peso corporal e efeito do treinamento físico aeróbio	53
Figura 9 - Variação do volume da pata	54
Figura 10 - Relaxamento induzido por acetilcolina, nitroprussiato de sódio e noradrenalina em artéria tibial caudal	59
Figura 11 - Curvas pressão-diâmetro e curva de constrição miogênica de artérias tibiais caudais	61
Figura 12 - Cinética do Ca^{2+} em artéria tibial caudal	63
Figura 13 - A sensibilização ao Ca^{2+} e a resposta miogênica em artérias tibiais caudais	65
Figura 14 - Expressão proteica de vias de sensibilização ao Ca^{2+} em artérias tibiais caudais ..	66
Figura 15 - Propriedades estruturais de artérias tibiais caudais	67
Figura 16 - Propriedades mecânicas de artérias tibiais caudais	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros hemodinâmicos	55
Tabela 2 - Parâmetros morfométricos	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β - ângulo de inclinação da curva *stress/strain* (índice de rigidez)
 ε - strain (deformação)
 σ - Stress (tensão)
0Ca - solução de Krebs sem Ca^{2+}
ACh - acetilcolina
ANP - peptídeo natriurético atrial
AST - área de secção transversa
BNP - peptídeo natriurético cerebral
 Ca^{2+} - íon cálcio
 Ca^{2+}_e - Ca^{2+} extracelular
 Ca^{2+}_i - Ca^{2+} intracelular
 $\text{Ca}_v1.2$ - canais para cálcio operados por voltagem tipo-L
CCR – curva concentração resposta
CM - constrição miogênica
D - diâmetro luminal efetivo
DAG - diacilglicerol
DC - débito cardíaco
 D_e - diâmetro externo
 D_i - diâmetro interno
 $D_{i0\text{Ca}}$ - diâmetro interno em solução de Krebs sem Ca^{2+}
 $D_{i\text{Ca}}$ - diâmetro interno em solução de Krebs com Ca^{2+}
 dP/dt^- - derivada de pressão em função do tempo negativa
 dP/dt^+ - derivada de pressão em função do tempo positiva
E - módulo elástico de Young
EDCFs - fatores contráteis derivados do endotélio
EDRFs - fatores de relaxamento derivados do endotélio
EGTA - ácido etileno glicol tetraacético
 E_{inc} - módulo elástico incremental
eNOS - óxido nítrico sintase endotelial
EP - espessura da parede
FC - frequência cardíaca
FE - fração de ejeção
FEVE - fração de ejeção do VE
IC - insuficiência cardíaca
ICs - insuficiente cardíaco sedentário
ICt - insuficiente cardíaco treinado
IM - infarto do miocárdio
 IP_3 - 1,4,5-trifosfato de inositol
KB - solução de Krebs-Henseleit
L - circunferência interna
L-NMMA - monometilarginina
MLCK - quinase de cadeia leve de miosina
MLCP - fosfatase de cadeia leve de miosina
MMP – Matriz de metaloproteinase
MYPT1 - subunidade de ligação da miosina / alvo da fosfatase
 Na^+ - íon sódio
NCX - trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

NO - óxido nítrico
NOR - noradrenalina
NPS - nitroprussiato de sódio
P - pressão intraluminal
P/L - razão parede/luz
PAD - pressão arterial diastólica
PAS - pressão arterial sistólica
P_dfVE - pressão diastólica final do VE
PKC - proteína quinase C
PLB - fosfolambano
PLC - fosfolipase C
PMSF - fluoreto de fenilmetanosulfonil
PSVE - pressão sistólica do VE
RhoA - pequenas proteínas G monoméricas
RLC₂₀ - cadeia leve regulatória de miosina
ROCK - Rho-quinase
ROCK II – isoforma II da Rho-kinase
RS - retículo sarcoplasmático
RYR - receptor de rianodina
SERCA - Ca²⁺-ATPase do retículo sarcoplasmático
SHAM - falso operados
SHAMs - falso operado sedentário
SHAMt - falso operado treinado
SRAA - sistema renina-angiotensin-aldosterona
T – tibia
TF - treinamento físico
TRPV1-6 e TRPV4 - canais potencial receptor transiente, subfamília vanilóide
U46619 - análogo do tromboxano A₂
VD – ventrículo direito
VE - ventrículo esquerdo
ViVED - volume interno do VE ao final da diástole
ViVEs - volume interno do VE ao final da sístole
Y-27632 - inibidor da Rho-quinase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Infarto do miocárdio	20
2.2 A insuficiência cardíaca	21
2.3 Reatividade vascular	22
2.3.1 Resposta vasodilatadora e vasoconstritora	22
2.3.2 Resposta miogênica	24
2.4 Estrutura e mecânica vascular	27
2.5 Patofisiologia do edema na IC	29
2.6 O treinamento físico	30
3 OBJETIVO	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Amostra de animais	34
4.2 Obtenção dos modelos experimentais	34
4.3 Avaliação da função ventricular	34
4.4 Concentração plasmática do peptídeo natriurético cerebral	35
4.5 Protocolo de treinamento físico	35
4.6 Pletismometria de pata	36
4.7 Medidas hemodinâmicas	38
4.8 Avaliação de hipertrofia cardíaca e da área de infarto	38
4.9 Avaliação do peso úmido dos músculos sóleo e gastrocnêmio	39
4.10 Avaliação da congestão pulmonar	39
4.11 Reatividade vascular	39
4.11.1 Avaliação das respostas de relaxamento dependente do endotélio e em resposta ao doador de NO.....	40
4.11.2 Avaliação da resposta vasoconstritora à noradrenalina	40
4.11.3 Avaliação da cinética do Ca^{2+}	40
4.12 Reatividade miogênica propriedades mecânicas e estruturais	40
4.13 Western blotting	47
4.14 Drogas e diluições	48
4.15 Expressão dos dados e análise estatística	48
5 RESULTADOS	49

5.1 Obtenção dos modelos experimentais e mortalidade	49
5.2 Avaliação da função ventricular e do ganho de peso corporal.....	51
5.3 Evolução do peso corporal e eficácia do treinamento físico	52
5.4 Avaliação do volume da pata	54
5.5 Medidas hemodinâmicas	55
5.6 Medidas morfométricas	56
5.7 Reatividade vascular	57
5.7.1 Resposta vasodilatadora dependente do endotélio e em resposta ao doador de NO em artéria tibial caudal.....	58
5.7.2 Resposta contrátil induzida por noradrenalina em artéria e veia femorais	58
5.8 Resposta miogênica	60
5.9 Cinética do Ca ²⁺	62
5.10 Papel da ROCK na resposta miogênica	63
5.11 Propriedades estruturais	66
5.12 Propriedades mecânicas	68
6 DISCUSSÃO	69
6.1 Caracterização do modelo de insuficiência cardíaca	69
6.2 Desempenho e peso corporal dos animais ao longo do treinamento físico aeróbio	72
6.3 Dados hemodinâmicos e morfométricos	72
6.4 Reatividade vascular	74
6.4.1 Respostas vasodilatadora e vasoconstritora	74
6.4.2 Resposta miogênica e mobilização do Ca ²⁺	78
6.5 Estrutura e mecânica vascular	83
5.6 Avaliação do volume da pata	88
7 CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte e incapacidade no mundo (World Health Organization - WHO, 2013). No Brasil, segundo dados do Departamento de informática do Sistema Único de Saúde, aproximadamente 31% das mortes por doenças cardiovasculares resultam diretamente de infarto do miocárdio (RIPSA, 2013), o qual foi a principal causa de óbito no ano de 2014 no município de São Paulo, segundo dados da Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo (TABNET, 2015).

O infarto do miocárdio (IM) é caracterizado por um desequilíbrio entre a demanda e o suprimento de oxigênio para o miocárdio (LEE; CANNON, 2005). Com base em fatores etiológicos, o IM pode ser classificado em espontâneo (IM tipo 1), o qual está relacionado à ruptura da placa aterosclerótica levando à embolia com necrose miocitária subsequente, ou em secundário decorrente de desequilíbrio isquêmico (IM tipo 2), o qual é observado em casos de aterosclerose fixa à parede arterial reduzindo o fluxo coronariano. Ainda o IM pode ser decorrente de vasoespasmos coronarianos e/ou disfunção endotelial, além de outras causas menos comuns (LEE; CANNON, 2005; THYGESEN et al., 2012). Como o coração não possui estoque de oxigênio e depende quase inteiramente do metabolismo aeróbico para prover suas altas taxas de consumo energético, após segundos de oclusão coronariana, a tensão de oxigênio cai rapidamente e ocorre disfunção ventricular esquerda (KERN, 2005).

A perda tecidual decorrente do IM e a disfunção do ventrículo esquerdo (VE) iniciam um processo chamado remodelamento ventricular (BOLOGNESE; CERISANO, 1999), caracterizado por alterações da geometria ventricular, as quais podem influenciar no surgimento da insuficiência cardíaca (IC) (ANQUENOT et al., 1992).

Clinicamente, a IC pode ser definida como uma síndrome na qual os pacientes apresentam sintomas típicos, como dispnéia, edema pulmonar, hepático ou de membros e intolerância aos esforços físicos, e sinais como pressão venosa jugular elevada, crepitação pulmonar e batimento do ápice de VE deslocado, resultado das anormalidades estruturais e funcionais cardíacas que levaram à falha do coração em fornecer oxigênio a uma taxa compatível com os requisitos da metabolização tecidual (MCMURRAY et al., 2012).

Nesse sentido, efeitos da IC podem repercutir em diversos órgãos e tecidos como é o caso dos vasos sanguíneos, relatado em diversos estudos avaliando relaxamento dependente do endotélio mostrando prejuízo (COUTO et al., 2015; BEN DRISS et al., 2000; VARIN et al., 1999) ou manutenção da resposta vasodilatadora (BEN DRISS et al., 2000) bem como prejuízo da resposta contrátil (BEN DRISS et al., 2000; PEREIRA et al., 2005), o

que sugere relação entre a função vascular e a evolução da IC. Outro fator de regulação do fluxo sanguíneo que pode estar afetado na a IC é a resposta miogênica, como o aumento da constrição miogênica observado em artéria cerebral posterior (YANG et al., (2012) e em artéria mesentérica (GSCHWEND et al., 2003), o que sugere um distúrbio da autorregulação do fluxo sanguíneo e da regulação da resistência vascular periférica. Além das alterações na reatividade vascular, levanta-se também a questão no presente estudo sobre a presença de modificações na estrutura e mecânica vascular (remodelamento vascular) presentes na IC, uma vez que alterações hemodinâmicas, além da ativação do sistema renina-angiotensin-aldosterona (SRAA), estresse oxidativo e elevação das concentrações plasmáticas de endotelina estão presentes na IC (LEVINE et al., 1982; MCMURRAY et al., 1992; SCHIFFRIN, 2005).

Sabe-se que o treinamento físico (TF) aeróbio na IC resulta em melhora de sintomas como a intolerância ao exercício (HAMBRECHT et al, 1995; PIÑA et al, 2003), além de melhorar a função endotelial (HAMBRECHT et al., 2003; KEMI et al., 2013; VARIN et al., 1999). Porém ainda é desconhecido o efeito do TF na resposta miogênica e estrutura e mecânica vascular associados à IC após IM.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Infarto do miocárdio

O IM, especialmente aquele onde há uma grande área envolvida, produz alteração na topografia em ambas as regiões: infartada e não infartada do ventrículo, a qual pode afetar a função ventricular (PFEFFER e BRAUNWALD, 1990). Como o IM mais comumente envolve o VE e o septo interventricular, as alterações na função sistólica do VE são mais pronunciadas (ANTMAN; BRAUNWALD, 2005; PASTERNAK et al., 2003). Dessa forma, a perda de tecido viável do miocárdio e a consequente disfunção do VE leva à redução do débito cardíaco (DC), a qual induz uma ativação neuro-humoral que, em conjunto com as alterações no VE decorrentes da redução da espessura, alongamento do território infartado e hipertrofia do segmento saudável sem aumento da espessura da parede (hipertrofia excêntrica), iniciam o processo conhecido como remodelamento ventricular (ANQUENOT et al., 1992; BOLOGNESE; CERISANO, 1999; MILL et al., 2011; VAUGHAN; PFEFFER, 1994).

Modelos animais de IM também têm sido desenvolvidos como estratégia para o estudo das alterações fisiopatológicas decorrentes da oclusão coronariana, como o modelo em ratos (MILL et al., 1990; PFEFFER et al., 1979; STEFANON et al., 1994; ZORNOFF et al., 2009), em cães (KAISER et al., 1989; REIMER et al., 1977) e suínos (GARCIA-DORADO et al., 1987; LUKÁCS et al., 2012). Entre outros fatores, as alterações morfológicas e funcionais decorrentes desses modelos muito se assemelham àquelas encontradas em humanos após o IM (FISHBEIN et al., 1978; GABALLA; GOLDMAN 2002; KLOCKE et al., 2007; PFEFFER et al., 1984; ZORNOFF et al., 2009).

Embora o remodelamento ventricular após o IM pareça representar um processo de ajuste cardíaco visando restaurar o desempenho do coração, conservando assim o volume sistólico e o DC por meio de mudanças geométricas e estruturais do VE, o processo de dilatação e hipertrofia ventricular pode ser indesejável como efeito a longo prazo na função ventricular esquerda global e no prognóstico clínico (COLUCCI; BRAUNWALD, 2005; FISHMAN, 1984; VAUGHAN e PFEFFER, 1994;). Essas alterações da geometria ventricular, em particular a dilatação da câmara cardíaca, podem influenciar na incidência de insuficiência cardíaca (IC) (ANQUENOT et al., 1992).

2.2 A insuficiência cardíaca

A IC é caracterizada como a incapacidade do coração em ajustar o DC às necessidades metabólicas do organismo, evoluindo para uma desproporção entre carga hemodinâmica e a capacidade cardíaca de suportá-la (FISHMAN, 1984).

Tanto no IM quanto na IC ocorrem ajustes neuro-humorais, como o aumento da descarga simpática e a liberação de hormônios como a angiotensina II e a endotelina (FRANCIS et al., 1990; VANHOUTTE, 1983). Esses hormônios auxiliam na tentativa de manter a pressão arterial, por meio da restauração ainda que parcial do DC e do aumento da resistência vascular periférica; assim, conservam a perfusão de tecidos essenciais como encéfalo e coração à custa de pronunciada vasoconstrição nos leitos vasculares renal, pancreático e intestinal, bem como uma vasoconstrição periférica generalizada, aumentando a pós-carga do coração (FRANCIS et al., 1990; VANHOUTTE, 1983). Porém, uma venoconstrição periférica também ocorre, e juntamente com o aumento do volume sanguíneo circulante, leva ao aumento da pré-carga cardíaca (COLUCCI; BRAUNWALD, 2005). Dessa forma, a longo prazo, o aumento tanto da pós-carga como da pré-carga torna-se deletério para o coração, uma vez que esse órgão teve uma perda de massa ocasionada pelo próprio quadro isquêmico apresentando prejuízo tanto em sua propriedade inotrópica como lusitrópica. Quadro este que levará à progressão do IM para a IC.

Devido a essas alterações, clinicamente a IC é definida como uma síndrome na qual os pacientes apresentam sintomas típicos como dispneia e fadiga os quais frequentemente limitam suas atividades cotidianas e tornam a intolerância ao exercício uma característica marcante da IC (OLSON et al., 2010). Os pacientes podem ainda apresentar retenção de fluidos produzindo sinais congestivos como edema tanto pulmonar e quanto periférico (edema de tornozelo) (MCMURRAY et al., 2012; WILSON et al., 1986a; ZELIS; FLAIM, 1981).

Baseada na severidade dos sintomas da IC e na limitação de atividade física a New York Heart Association (NYHA) propõe a seguinte classificação funcional: Classe I – o paciente não apresenta limitação à atividade física; Classe II – o paciente apresenta ligeira limitação à atividade física, como o surgimento de dispneia, fadiga ou palpitações, porém o paciente encontra-se confortável em repouso; Classe III – o paciente apresenta limitação acentuada à atividade física resultando em dispneia, fadiga ou palpitações, mas sente-se confortável em repouso; Classe IV – incapaz de realizar qualquer atividade física sem

desconforto e mesmo em repouso, os sintomas podem estar presentes (MCMURRAY et al., 2012).

Sintomas relativos à intolerância ao exercício tem sido atribuídos à subperfusão do músculo esquelético, que resulta do diminuído débito cardíaco (SULLIVAN et al., 1989; WILSON et al., 1984), enquanto outros estudos relacionam a fadiga em pacientes com IC a alguma anormalidade intrínseca do músculo esquelético (DALA LIBERA et al., 2004; JONES; WOODS 2003). De fato, reconhece-se que em humanos o aumento do fluxo sanguíneo para o músculo durante o trabalho muscular, como ocorre com o exercício, encontra-se atenuado na IC (DREXLER et al., 1992; HIROOKA et al., 1994; ZELIS et al., 1968) e, esse fato deve-se ao prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio que pode ser observado em doenças cardiovasculares como o IM e a IC tanto em humanos (BANK et al., 1994; KATZ et al., 1992; KUBO et al., 1991; ZELIS; FLAIM 1981) quanto em animais (BAUERSACHS et al., 1999; BERGES et al., 2005; COUTO et al., 2015).

2.3 Reatividade vascular

2.3.1 Resposta vasodilatadora e vasoconstritora

Sabe-se que o endotélio vascular desempenha um papel importante na regulação do tônus vascular, liberando fatores de relaxamento e contração derivados do endotélio quando ativado por neurotransmissores, hormônios, autacóides ou estímulos físicos (BUSSE; FLEMING, 2003; FLAMMER; LÜSCHER, 2010; FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Entre as substâncias vasodilatadoras produzidas no endotélio estão os fatores de relaxamento derivados do endotélio (EDRFs): óxido nítrico (NO) (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980), prostaciclina (PGI₂) (MONCADA; VANE, 1979) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) (FÉLÉTOU; VANHOUTTE, 2009). Entre os fatores contráteis derivados do endotélio (EDCFs) estão: a endotelina, as prostaglandinas, a angiotensina II e as espécies reativas do oxigênio (ROS) (RUBANYI; VANHOUTTE, 1986; DAVEL et al., 2011). Dentre os EDRFs, NO é considerado uma das substâncias vasodilatadoras cruciais na regulação do tônus vascular e da resistência vascular (FLAMMER; LÜSCHER, 2010; FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980; MONCADA et al., 1991). Assim, alterações na função endotelial, como o desequilíbrio entre a liberação e/ou biodisponibilidade entre os EDRFs e os EDCFs, podem resultar em disfunção endotelial (DAVEL et al., 2011).

Estudos em pacientes com IC têm demonstrado prejuízo na resposta vasodilatadora à acetilcolina (ACh) na circulação periférica do antebraço em comparação com indivíduos saudáveis (DREXLER et al., 1992; KATZ et al., 1992; KUBO et al., 1991; SCHWARZ et al., 1994). Entretanto, Bank e cols. (1994) observaram que a vasodilatação dependente do endotélio não se mostrou prejudicada na artéria braquial de pacientes com IC quando comparados com indivíduos saudáveis. Em conjunto, esses estudos sugerem que o prejuízo à vasodilatação dependente do endotélio não está uniformemente presente em todas as artérias e nem totalmente esclarecido, como já foi relatado por Zelis e Flaim (1982). No mesmo sentido, estudos realizados com artérias provenientes do modelo de IM em ratos mostraram redução, nenhuma alteração ou mesmo aumento no relaxamento dependente do endotélio em diferentes tempos pós-IM (BAGGIA et al., 1997; BAUERSACHS et al., 1999; BERGES et al., 2005; BEM DRISS et al., 2000; COUTO et al., 2015; DA CUNHA et al., 2004; ONTKEAN et al., 1991; VARIN et al., 1999), o que sugere relação entre a função endotelial no IM e sua progressão para IC com o tempo transcorrido desde o evento isquêmico e o tipo de vaso ou leito vascular avaliado.

Estudo do nosso grupo de pesquisa encontrou redução no relaxamento dependente do endotélio em artéria coronária septal de ratos com severa disfunção ventricular esquerda (IC) após um período de 4 semanas de IM associado à diminuição da produção de NO e estresse oxidativo (COUTO et al., 2015). Esses dados vão ao encontro de outros estudos que relataram reduzida expressão do RNAm da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em artéria do músculo grácil de ratos com 11 semanas de IM (VARIN et al., 1999) e em artéria pulmonar de ratos com 4 meses de IM (BEN DRISS et al., 2000). Por outro lado, nosso grupo de pesquisa também encontrou um aumento da vasodilatação dependente do endotélio induzida pela acetilcolina, associada a uma maior expressão proteica da eNOS e produção de NO em artéria coronária de ratos com leve disfunção ventricular esquerda após um período de 4 semanas de IM (COUTO et al., 2015). O que está de acordo com dados que demonstram um aumento da expressão do RNAm da eNOS em aorta torácica de ratos 8 semanas pós-IM (BAUERSACHS et al., 1999). Tais achados podem indicar um mecanismo de compensação das artérias na tentativa de manter um adequado controle da perfusão e nutrição tecidual (COUTO et al., 2015). Entretanto, são necessários estudos nesse sentido, tendo em vista a variabilidade dos achados na literatura e a complexidade dos mecanismos subjacentes, que ainda não inteiramente esclarecidos. O que é bem conhecido, no entanto, é que a perda da biodisponibilidade de NO pode agravar a disfunção do VE em função do aumento da vasoconstrição periférica, da vasoconstrição coronariana e do aumento do consumo de

oxigênio do miocárdio (KIOWSKI et al., 1998; RECCHIA et al., 1998; WANG et al., 1994), o que pode contribuir para o agravamento do quadro de IM.

Semelhante ao que ocorre com a resposta vasodilatadora dependente do endotélio, também se pode observar marcante heterogeneidade quanto à resposta contrátil em artérias como uma atenuação da resposta contrátil à fenilefrina em artéria pulmonar 4 meses após o evento isquêmico (BEN DRISS et al., 2000) e em leito vascular da cauda 4 semanas pós-IM (PEREIRA et al., 2005). Possíveis mecanismos que podem explicar essas alterações na resposta contrátil pós-IM incluem: redução da produção basal de NO (TEERLINK et al., 1994), aumento da produção de ânion superóxido (FEARON; FAUX, 2009), elevada produção de EDCFs (VANHOUTTE, 1996), ativação da isoforma induzível da sintase de NO (iNOS) (MILLER et al., 2000; SARTÓRIO et al., 2005; STATHOPULOS et al., 2001), dessensibilização e *downregulation* de receptores β -adrenérgicos (GABALLA et al., 2001), redução do influxo de íons cálcio (Ca^{2+}) estimulado por agonista α_1 -adrenérgico (STASSEN et al., 1997) ou ainda mudanças hemodinâmicas associadas a alterações estruturais da parede vascular, que possam modificar a sinalização intracelular (POURAGEAUD; DE MEY, 1998).

Por sua vez, não se pode descartar que possivelmente esteja em ação um sistema vasodilatador contra regulador, com o objetivo de manter o controle da perfusão tecidual e, portanto um quadro de IC compensada, protegendo os vasos de excessiva vasoconstrição (PUNZENGRUBER et al., 1986), pois sabe-se que a vasoconstrição sistêmica é um importante mecanismo compensatório e que inúmeros fatores contribuem para a sua gênese e agravamento, tais como: diminuição do DC, o qual contribui para uma redução da tensão de cisalhamento sobre as células endoteliais, levando à redução da liberação de NO (VANHOUTTE, 1996); aumentada ativação simpática (BARRETTO et al., 2009); ativação do SRAA (FRANCIS et al., 1990) e elevação das concentrações plasmáticas de endotelina (STEVENSON; FONAROW, 1992).

2.3.2 Resposta miogênica

Além dos fatos descritos acima, outro mecanismo que contribui significativamente para a autorregulação do fluxo sanguíneo (isto é, a manutenção do fluxo dentro de valores relativamente constantes e adequados à demanda metabólica local, apesar de possíveis variações na pressão arterial) é a resposta miogênica (JOHNSON, 1986; SHUBERT; MULVANY, 1999). A resposta miogênica refere-se aos ajustes do tônus vasomotor em consequência de alterações na pressão transmural (Pressão intravascular –

Pressão extravascular). Logo, o aumento da pressão transmural resulta em resposta vasoconstritora e, a redução da mesma resulta em resposta vasodilatadora (DAVIS; HILL, 1999; SHUBERT; MULVANY, 1999), em uma tentativa de manter a pressão a jusante constante.

É importante salientar que o fenômeno autorregulatório é eficaz dentro de um intervalo limitado de valores da pressão arterial. Uma vez que o intervalo seja ultrapassado, o fluxo sanguíneo muda em conformidade com as mudanças na pressão de perfusão e um ajuste compensatório já não é possível (BAYLISS, 1902; JONES; BERNE, 1964). Além disso, vale ressaltar que mesmo em presença de uma pressão arterial basal, os vasos não se encontram inteiramente relaxados, mas exibem um nível espontâneo de constrição, conhecido como tônus basal ou tônus miogênico (DAVIS; HILL, 1999).

Em diversos leitos vasculares a resposta miogênica contribui para a autorregulação do fluxo sanguíneo como no leito renal, encefálico (onde é especialmente mais pronunciada), coronariano, mesentérico e no muscular esquelético (MULLER et al., 1996; FARACI et al., 1989; ROMAN e HARDER, 1993; GSCHWEND et al., 2003; SUN et al., 1994). Nesses leitos a regulação local do fluxo sanguíneo ocorre nas artérias de pequeno calibre e nas arteríolas, os principais segmentos de resistência da microcirculação (GRANGER et al., 1976; MULVANY e AALKJAER, 1990).

Dessa forma, pode-se afirmar que a resposta miogênica participa de três importantes funções fisiológicas: 1) da autorregulação do fluxo sanguíneo e, por sua vez, da manutenção da pressão hidrostática capilar, 2) do estabelecimento de um tônus vascular basal e 3) da regulação da resistência vascular periférica (BAYLISS, 1902; JONES; BERNE, 1964; MELLANDER, et al., 1987).

Entre os muitos mecanismos celulares que respondem ao estímulo mecânico do estiramento da membrana e que estão por trás da resposta miogênica, sabe-se que canais para cálcio operados por voltagem tipo-L ($Ca_v1.2$) desempenham papel obrigatório na despolarização das células do músculo liso vascular, levando ao aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular (Ca^{2+}_i) (KARIBE et al., 1997; WESSELMAN et al., 1996). Canais para cátions “não seletivos”, como os canais potencial receptor transiente na sua subfamília vanilóide (TRPV1-6 e TRPV4) os quais são seletivos para influxo de Ca^{2+} e íons sódio (Na^+), também tem importante participação na regulação dos $Ca_v1.2$ (MORITA et al., 2007; WELSH et al., 2002), além de serem candidatos a canais mecanossensíveis (CHRISTENSEN; COREY, 2007). Ainda com relação à mobilização do Ca^{2+} a partir do meio extracelular, tem sido sugerida a participação do trocador Na^+/Ca^{2+} (NCX), o qual sob impulso dos canais

TRVP funcionaria no seu modo reverso (extrusão de Na^+ / entrada de Ca^{2+}) (RAINA et al., 2008).

Trabalhos avaliando a mobilização do Ca^{2+}_i também sugerem que a Ca^{2+} -ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA) (GOTO et al., 2014) e o receptor de rianodina (RYR) (WATANABE et al., 1994) também podem ser modulados pelo estiramento da membrana, alterando o gradiente iônico e a disponibilidade de Ca^{2+} .

Autores mostram ainda que o receptor de rianodina (RYR) também pode estar relacionado com a fase inicial de manutenção da resposta miogênica, mas não com o seu disparo (WATANABE et al., 1994). Paralelamente à despolarização, estudos demonstraram que, em resposta ao aumento da tensão da parede há aumento da ativação da fosfolipase C (PLC) e geração de 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3) (BAKKER et al., 1999; MEININGER; DAVIS, 1992; NARAYANAN et al., 1994), além de sensibilização da maquinaria contrátil ao Ca^{2+} (VANBAVEL et al., 1998).

A sensibilização ao Ca^{2+} é o fenômeno no qual estímulos provenientes quer de agonista excitatórios, por meio de estimulação de receptores acoplados à proteína G (GOHLA et al., 2000; KITAZAWA et al., 1991), quer oriundo de despolarização da membrana (MITA et al., 2002; SAKURADA et al., 2003) são capazes de disparar a contração do músculo liso com pouca ou nenhuma elevação de concentração de Ca^{2+}_i (OGUT; BROZOVICH, 2003). Esse mecanismo fisiológico acontece paralelamente à ativação da PLC a qual produz dois potentes segundos mensageiros: o IP_3 (que se liga a receptores específicos no retículo sarcoplasmático para liberação de Ca^{2+}) e o diacilglicerol (DAG), que ativa a proteína kinase C (PKC). O complexo Ca^{2+} -calmodulina leva à ativação da quinase de cadeia leve de miosina (MLCK) que fosforila a cadeia leve regulatória de miosina (RLC_{20}) que, em conjunção com a actina, produz o ciclo das pontes cruzadas. Como a elevação da concentração de Ca^{2+}_i é transiente, a resposta contrátil é mantida pelo mecanismo de sensibilização ao Ca^{2+} o qual inibe a fosfatase de cadeia leve de miosina (MLCP) (SOMLYO e SOMLYO, 2003; WEBB, 2003). Assim, ao mesmo tempo, pequenas proteínas G monoméricas (RhoA) ativam a Rho-kinase (ROCK), a qual aumenta a fosforilação da MLCP, inibindo a sua atividade, e promovendo o estado contrátil (OGUT; BROZOVICH, 2003). Outro potencial mecanismo de sensibilização ao Ca^{2+} é a fosforilação da CPI-17 que atua como substrato tanto para a ROCK quanto para PKC também inibindo a MLCP, agindo em sinergismo com a ROCK (OGUT; BROZOVICH, 2003).

Nesse sentido, estudos sugerem que a inibição da ROCK reduz a força da resposta miogênica (SCHUBERT et al., 2002; YEON et al., 2002), bem como aumenta a fosforilação

da subunidade de ligação da miosina / alvo da fosfatase (MYPT1) e da RLC₂₀ dependente da via da ROCK em resposta ao aumento da pressão transmural (JOHNSON et al., 2009).

Outro mecanismo atuante na resposta miogênica, mas como um *feedback* negativo, são os canais para potássio operados por voltagem e os canais para potássio ativados por Ca²⁺ como dois potentes mecanismos repolarizantes, antagonizando o estímulo resultante do estiramento do músculo liso vascular (KANG et al., 2009). Apesar de inúmeros estudos nesse sentido, muitas questões ainda precisam ser esclarecidas quanto aos mecanismos celulares e possíveis vias de sinalização que apoiam a constrição miogênica (MURPHY et al., 2002).

Alguns autores têm demonstrado o prejuízo da resposta miogênica com o avançar da idade, como observado por Kang e colaboradores (2009) em arteríolas dos músculos sóleo e gastrocnêmio de ratos idosos. A resposta miogênica pode estar exacerbada na hipertensão arterial, em estudos realizados em artérias cerebral posterior (OSOL; HALPERN, 1985), mesentérica (IZZARD et al., 1996) e coronária de ratos (GARCIA et al., 1997). Em ramos de primeira ordem de artéria cerebral posterior de camundongos, após 4 a 6 semanas de cirurgia para indução de IM, foi observado um aumento da resposta miogênica, quando comparado com animais falso operados (SHAM), nos quais a mesma era quase inexistente (YANG et al., 2012), assim como em artérias mesentéricas de ratos com IC após 12 semanas de IM (GSCHWEND et al., 2003).

2.4 Estrutura e mecânica vascular

Dadas as alterações hemodinâmicas presentes no IM e IC e a inter-relação entre os sistemas SRAA e endotelina, presentes no IM e na sua progressão para a IC, levanta-se a questão sobre a presença de modificações na estrutura e mecânica vascular presentes no IM e IC, uma vez que a angiotensina-II, a aldosterona e a endotelina são importantes mediadores de inflamação no sistema vascular (ALVAREZ et al., 2001; DEACON; KNOX, 2010; KEIDAR et al., 2004;) capazes de induzir remodelamento vascular (AMIRI et al., 2004; BAUMBACH et al., 2003; PRUTHI et al., 2014). Tais modificações são conhecidas como remodelamento vascular (MULVANY, 1999), cuja principal característica é a alteração do diâmetro luminal e da área de secção transversa do vaso. Quanto às alterações do diâmetro luminal, o remodelamento pode ser classificado como: para fora ou para dentro, dependendo se o processo resultou em um acréscimo ou redução, respectivamente, do diâmetro. E, quanto à área de secção transversa como: remodelamento hipertrófico, eutrófico e hipotrófico, que

seria, respectivamente, um acréscimo, nenhuma alteração ou diminuição da área de secção transversa do vaso (MULVANY, 1999). Sabe-se que a elasticidade do material que compõe a parede dos vasos e as características geométricas desses determinam o que se conhece por complacência vascular (BUDE; RUBIN, 1999; GLASSER et al., 1997;). Assim, componentes como o músculo liso, a matriz extracelular (elastina, colágeno, fibronectina, integrinas), além do citoesqueleto e das junções intercelulares, tornam-se determinantes para as propriedades estruturais e mecânicas da parede dos vasos (DOBRIN, 1978; MARTINEZ-LEMUS et al., 2009). Modificações desses componentes alteram as características estruturais e mecânicas dos vasos, as quais podem vir a modificar o diâmetro luminal, a espessura da parede e/ ou área de secção transversa, dando início ao remodelamento vascular (BAUMBACH; HEISTAD, 1989; BAUMBACH; HEISTAD, 1991; MULVANY et al., 1996).

O primeiro estudo a relatar o efeito do IM nas propriedades mecânicas e estruturais de artéria de condutância foi realizado por Gaballa e colaboradores (1995), os quais encontraram um aumento da rigidez associado a uma redução da espessura da camada média e aumento da deposição de colágeno em artéria carótida em ratos 6 semanas pós-IM. Entretanto, Mulder et al. (1996) utilizando o mesmo modelo de IM, não encontraram alterações de espessura, nem modificação no conteúdo de colágeno em artérias femoral e mesentérica de terceira ordem, após 1 semana, 30 dias e 1 ano.

Devido à escassez, à divergência dos achados e às diferentes metodologias empregadas na análise das modificações estruturais e mecânicas relativas ao remodelamento vascular associado ao IM e ao TF, se faz necessário estudos mais aprofundados nesse sentido. Tendo em vista que as artérias de resistência são os determinantes primários da resistência vascular e fluxo sanguíneo fornecido a uma rede capilar (BASSENGE; MÜNZEL, 1988; MULVANY; AALKJAER, 1990), e que após o IM há prejuízo no controle da perfusão tecidual em vários territórios como, por exemplo, no músculo esquelético durante o exercício (SULLIVAN et al., 1989), faz-se necessário avaliar se alterações desses parâmetros nas artérias de resistência poderiam explicar os sinais e sintomas da IC, tais como a intolerância ao exercício e o edema periférico (ZELIS et al.; 1981; ZELIS; FLAIM, 1981).

2.5 Patofisiologia do edema na IC

A patogênese do edema periférico na IC apresenta uma cadeia de eventos causados pela disfunção ventricular sistólica e consequente redução do débito cardíaco. Inicialmente a reduzida pressão de perfusão causada pelo baixo débito ativam mecanismos humorais como o SRAA que aumentam o volume sanguíneo circulante por meio da redução de excreção de sódio e água (FRANCIS et al., 1990; COLUCCI; BRAUNWALD, 2005). Em consequência ao aumento do volume circulante, somado à disfunção da bomba cardíaca e ao aumento do tônus venoso, ocorre elevação da pressão venosa (WARREN; STEAD, 1944). Além disso, tem na IC ocorre um prejuízo do retorno linfático ocasionado por uma incompetência valvular dos vasos linfáticos em consequência da sua dilatação (MCMASTER, 1937; WÉGRIA et al., 1967).

Ernest H. Starling definiu as forças fisiológicas envolvidas na manutenção do equilíbrio para a regulação precisa e rápida da quantidade de fluido circulante como a pressão hidrostática, a pressão osmótica e a permeabilidade hidráulica da parede dos vasos sanguíneos (STARLING, 1896). O equilíbrio dos fluidos depende da pressão hidrostática dentro do sistema vascular e da pressão osmótica no fluido intersticial que tendem a promover o movimento do fluido do espaço vascular para o extravascular. Além da pressão osmótica constituída pelas proteínas plasmáticas e da pressão hidrostática dentro do fluido intersticial, as quais promovem o movimento do fluido para dentro do compartimento vascular (LEVICK, 1991). Qualquer distúrbio nessa delicada homeostase que favoreça a filtração (saída de fluido para fora dos capilares) ou prejudique a reabsorção (retorno do fluido para os capilares ou vasos linfáticos) resultará em edema (CHO; ATWOOD, 2002).

Aspectos das forças de Starling na IC são mais bem estudados no que diz respeito ao edema pulmonar, o qual está relacionado a um aumento da pressão hidrostática capilar, associado à reduzida pressão coloidosmótica plasmática (DA LUZ et al., 1975) e esse aumento encontra-se associado à piora do prognóstico de pacientes com IC (MORISSETTE et al., 1975).

Níveis elevados de peptídeo natriurético atrial (ANP), produzido pelos miócitos cardíacos e cuja produção encontra-se elevada na IC (BURNETT et al., 1986), podem aumentar a condutividade hidráulica capilar e a filtração transcáпилar sistêmica (ALMEIDA et al., 1986; HUXLEY et al., 1987), a qual pode ser ocasionada pelo escape de albumina do leito vascular periférico para o interstício (ZIMMERMAN et al., 1990), podendo ser uma das causas do edema periférico encontrado na IC.

2.6 O treinamento físico

A intolerância ao exercício observada na IC pode ser definida como a reduzida capacidade de realizar atividades que envolvem movimentos dinâmicos de grandes grupos musculares esqueléticos devido a sintomas de dispneia e fadiga, ocasionados pela limitada capacidade do coração em elevar o DC combinado com uma elevada resistência vascular periférica e alterações no músculo esquelético que contribuem para uma anormal extração de oxigênio ou liberação/ utilização de substratos (PIÑA et al, 2003). Sabe-se que o TF em pacientes com IC resulta em uma melhora na tolerância ao exercício, avaliado pelo VO_2 pico e também pela duração do exercício (HAMBRECHT et al, 1995; PIÑA et al, 2003); além de retardar o metabolismo anaeróbio e melhorar a capacidade oxidativa dos músculos esqueléticos (HAMBRECHT et al., 1995), aumentar o fluxo sanguíneo e finalmente melhorar a qualidade de vida desses pacientes (PIÑA et al., 2003). Assim, o TF tem efeitos benéficos após o IM e na IC, tais como: redução dos índices de morbidade e mortalidade (TAYLOR et al, 2004), redução da hiperatividade simpática (BACURAU et al, 2009; NEGRÃO; MIDDLEKAUFF, 2008), restauração do tônus parassimpático reduzido para o coração (ICHIGE et al., 2016), melhora da função do músculo esquelético e prevenção da atrofia, além de ser um eficiente tratamento não farmacológico para a IC (BRUM et al., 2011).

No que concerne ao IM, foi relatado que o TF iniciado logo após o evento isquêmico reduz a hipoperfusão miocárdica, bem como melhora a função e a contratilidade do VE, benefícios atribuídos à prevenção do remodelamento do VE (GIALLAURIA et al., 2013). De forma semelhante, o TF em esteira rolante, por 10 semanas, em modelo de IC pós-IM em ratos, demonstrou melhora da contratilidade à ativação de receptores β -adrenérgicos em miócitos isolados, efeito pró-angiogênico, além de redução tanto do diâmetro sistólico quanto diastólico do VE quando comparado com os animais com IC sedentários (LEOSCO et al., 2008). Campos et al. (2012) relataram que o TF em esteira rolante por 12 semanas, em ratos pós-IM normalizou a largura dos cardiomiócitos, reduziu a deposição de colágeno cardíaco e a dilatação do VE e melhorou a função cardíaca, representada por uma elevada fração de encurtamento ventricular e fração de ejeção.

Há relato de que o TF também é capaz de melhorar a função endotelial, como observado em estudo com TF em esteira e bicicleta ergométrica por 4 semanas, no qual obteve-se melhora da resposta vasodilatadora à acetilcolina bem como da resposta à dilatação mediada pelo fluxo em artéria mamária interna esquerda de pacientes com doença arterial

coronariana (HAMBRECHT et al., 2003). Resposta semelhante foi observada em estudo com TF de ratos infartados com IC submetidos ao protocolo de natação, por 10 semanas, no qual se observou melhora do prejuízo da resposta vasodilatadora à acetilcolina em artéria do músculo grácil, bem como melhora na dilatação mediada pelo fluxo (VARIN et al., 1999). O TF em esteira rolante por 8 semanas, em ratas pós-IM (4 semanas) também melhorou a resposta vasodilatadora dependente do endotélio em aorta abdominal, por meio de uma via dependente de NO (KEMI et al., 2013). O TF em pacientes com doença arterial coronariana aumentou a expressão do RNAm da eNOS, a fosforilação da eNOS no seu sítio de ativação, resíduo Ser₁₁₇₇, em artéria mamária interna esquerda, provavelmente via Akt (HAMBRECHT et al., 2003). Além do mais, o TF por 10 semanas, em ratos com IC pós-IM também se mostrou efetivo na normalização da expressão do RNAm da eNOS, a qual se encontrava reduzida no grupo sedentário, em artéria do músculo grácil (VARIN et al., 1999). Em conjunto, esses trabalhos sugerem que a disfunção endotelial observada nessa enfermidade pode ser parcialmente restaurada com o TF e que esse parece agir por uma via de sinalização dependente da NOS.

Em contrapartida, outros estudos têm demonstrado que o TF parece não interferir na resposta vasodilatadora na IC, como observado no fluxo sanguíneo em resposta à hiperemia reativa ou em resposta à acetilcolina, a qual foi aumentada em indivíduos saudáveis, mas não no fluxo sanguíneo do braço de pacientes com IC após 4 a 6 semanas de TF com *handgrip* (BANK et al., 1998). Também em aorta de ratas com IC, nas quais havia sido observado prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio, não houve melhora após 6 semanas de TF (LINDSAY et al., 1992). Nesse sentido, o efeito do TF na reatividade vascular em presença de IC cardíaca parece variar segundo o tipo de TF empregado, o leito vascular e o agravamento da IC.

Um crescente número estudos de têm avaliado ainda o efeito do TF na resposta miogênica. Entretanto, os ajustes relacionados ao TF parecem diferir quanto à artéria escolhida e ao músculo ao qual ela irriga. Em trabalhos onde se utilizou o TF em esteira ergométrica de 10-12 semanas, observou-se que arteríolas do músculo sóleo de ratos saudáveis treinados em esteira ergométrica exibiram resposta miogênica similar aos animais sedentários (JASPERSE; LAUGHLIN, 1999). Já outro estudo com o primeiro ramo intramuscular da arteríola do músculo sóleo houve uma amplificação da resposta miogênica com o TF em animais saudáveis, uma melhora que teve a participação dos canais para potássio ativados por Ca²⁺, os quais parecem exercer menor oposição à resposta miogênica com o TF (GHOSH et al., 2015).

No entanto ainda é desconhecido o efeito do TF associado ao modelo de IM e IC na resposta mio gênica, a qual pode estar envolvida nas alterações hemodinâmicas, bem como nos ajustes produzidos pelo TF que o tornam benéfico tanto para indivíduos saudáveis quanto para indivíduos com alto risco cardiovascular (DE WAARD et al., 2010).

Quanto ao remodelamento vascular em artérias, sabe-se que o TF é considerado como um tratamento não farmacológico capaz de reduzir a rigidez arterial em pacientes com hipertensão arterial (LAURENT; BOUTOUYRIE, 2007). Além disso, já foi observado que o TF de 13 semanas em animais hipertensos reduziu a razão parede/ luz de arteríolas do músculo grácil (AMARAL et al., 2000), induziu redução da pressão arterial acompanhada de uma normalização da razão parede/ luz em arteríolas de diferentes músculos esqueléticos (MELO et al., 2003) e corrigiu tanto a expressão de colágeno como de fibras elásticas na camada média de aorta, reduzindo o processo fibrótico (JORDÃO et al., 2011). Entretanto, Roque et al. (2013), estudando TF em esteira por 12 semanas em ratos hipertensos não observaram alteração dos parâmetros estruturais em artéria coronária e mesentérica. Porém, observaram normalização da rigidez e melhora da distensibilidade vascular.

No que concerne ao efeito do TF em modelos de animais de IM ou com IC, avaliando a estrutura e mecânica de artérias de resistência do músculo esquelético, não existem dados na literatura.

A escolha da artéria tibial caudal utilizada para o presente estudo se deu por ser uma artéria de terceira ordem proveniente da artéria femoral a qual irriga grupos musculares flexores do membro pélvico de roedores tais como músculos poplíteo, flexor longo do hálux, flexor longo dos artelhos e cabeça lateral do músculo gastrocnêmio (EKEN et al., 2005; LEAL et al., 2016), grupos musculares ativos durante o TF.

Fundamentando-se em estudos prévios (GABALLA et al., 1995; GHOSH et al., 2015; VARIN et al., 1999), a hipótese do presente estudo foi de que animais com IC por IM apresentariam disfunção vascular, associada a alterações estruturais e mecânicas da parede das artérias tibiais caudais de rato e que o TF seria capaz de melhorar esses parâmetros, representando, portanto um tratamento efetivo capaz de melhorar sinais da IC como é o caso de edema de membros inferiores.

3 OBJETIVO

Estudar o efeito do TF de moderada intensidade, por 8 semanas, em esteira ergométrica sobre a reatividade e remodelamento (estrutura e mecânica) em artéria tibial caudal de ratos pós-IM, com sinais de IC, e na geração de edema periférico, buscando avaliar as vias de sinalização envolvidas nesses ajustes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra de animais

Utilizou-se ratos Wistar com idade de 2 meses adquiridos do biotério de criação do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade de São Paulo (ICB/USP) e mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB/USP, em gaiolas, sob condições controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 h, com livre acesso à água e à alimentação. Os presentes protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética do Instituto de Ciências Biomédicas da USP sob o nº 118, folha 24, livro 03.

4.2 Obtenção dos modelos experimentais

Foi realizada oclusão cirúrgica do ramo descendente anterior da artéria coronária esquerda dos ratos, o que resultou em IM. Para tal, os ratos foram anestesiados com uma solução contendo ketamina e xilazina (50 e 10 mg/kg, respectivamente, *i.p.*). O coração foi exposto pela toracotomia intercostal. A artéria coronária descendente anterior foi enlaçada por uma sutura de nylon (7,0) ~ 1mm de sua origem, e então, “sutilmente” amarrada. Esse procedimento causou uma clara e demarcada área cianótica de isquemia miocárdica aguda, que correspondia à área distalmente irrigada pela artéria. Por meio de tal procedimento visou-se obter infartos transmuralis, caracterizados por necrose isquêmica. O grupo controle falso operado (SHAM), isto é, passou pelas mesmas etapas descritas acima, com exceção da ligadura da artéria coronariana. Os ratos foram inicialmente divididos em 2 grupos, de acordo com o procedimento cirúrgico: 1) Grupo infarto do miocárdio e 2) Grupo SHAM.

4.3 Avaliação da função ventricular

Com a finalidade de avaliar a função do VE, de forma não invasiva, foi realizado o exame ecocardiográfico transtorácico. Esse foi realizado 4 semanas pós-IM, com o intuito de identificar precocemente animais que apresentassem maior prejuízo da função ventricular, sendo classificados como IC, e destiná-los para o programa de TF. As medidas ecocardiográficas seguiram as recomendações do Comitê de Padronização do modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAHN et al., 1998), segundo as quais foram obtidos as medições dos volumes internos do VE ao final da diástole (ViVED) e final da

sístole (ViVEs) e calculada a fração de ejeção (FE) como segue: $FE(\%) = [(ViVEd - ViVEs) / ViVEd] \times 100$. O exame ecocardiográfico foi realizado em animais anestesiados com uma mistura contendo ketamina e xilazina (50 e 10 mg/Kg, respectivamente, *i.p.*). Em seguida, os animais foram submetidos à tricotomia da região torácica ventral e mantidos em decúbito dorsal para a realização do exame utilizando o equipamento Vivid E9 (GE Healthcare, Noruega) com transdutor 12SD de 4 a 12 MHz. A função sistólica foi avaliada pela fração de ejeção pelo método de Simpson (SCHILLER et al., 1989), o qual baseia-se na premissa de que o volume total de qualquer objeto pode ser estimado pela soma de diversas fatias do mesmo objeto.

Após a avaliação ecocardiográfica os animais infartados que apresentaram fração de ejeção $\leq 35\%$ foram incluídos no estudo, os demais foram excluídos.

4.4 Concentração plasmática do peptídeo natriurético cerebral

A concentração plasmática de peptídeo natriurético cerebral (BNP) foi mensurada 4 semanas pós-IM também com o objetivo de avaliar a severidade da IC, visto que a concentração plasmática de BNP correlaciona-se positivamente com o estresse de parede ventricular (MAEDER, 2010). Assim, sob anestesia inalatória (halotano, Cristália, São Paulo, BR), amostras de sangue (≈ 1 mL) foram rapidamente obtidas do plexo/sinus retro-orbital, utilizando-se tubo capilar com 1,6 mm de diâmetro externo e 3,5 mm de comprimento. As amostras foram coletadas em tubos contendo citrato de sódio (0,1 M), imediatamente centrifugadas (3000 g por 10 min a 4 °C) e o sobrenadante foi armazenado à -80 °C. As concentrações plasmáticas de BNP foram mensuradas por ELISA utilizando um kit para BNP (ab108815 – BNP 32 Rat, Abcan, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Todas as amostras e controles foram testados em duplicata.

Após a quantificação do BNP, os animais infartados que apresentaram nível plasmático em torno de $0,3 \pm 0,02$ ng/mL foram incluídos no estudo, os demais foram excluídos do estudo.

4.5 Protocolo de treinamento físico

O protocolo de treinamento físico iniciou-se na 4ª semana pós-IM após período de uma semana de aclimação dos animais em esteira ergométrica adaptada para ratos. Durante o período de aclimação os animais foram postos para correr na esteira diariamente de 15 a

20 min a uma velocidade de 0,3 a 0,6 Km/h. Ao final do período de aclimação os animais foram submetidos ao primeiro teste esforço máximo, adaptado de AMARAL e colaboradores (2000), o qual avalia a capacidade aeróbia máxima, sendo realizado nas semanas 0, 4 e 8 de treinamento, com o objetivo de avaliar o desempenho dos animais e reajustar os valores da velocidade de treinamento. Em conjunto com os resultados obtidos na avaliação ecocardiográfica, na quantificação do BNP e os resultados obtidos do primeiro teste de esforço os animais foram subdivididos em: 1) controle sedentário (SHAMs), 2) controle treinado (SHAMt), 3) IC sedentário (ICs) e 4) IC treinado (ICt). O protocolo de TF aeróbico de moderada intensidade (50% e 60% da carga máxima atingida no teste de esforço com inclinação de 0%), como descrito previamente por AMARAL e colaboradores (2000), constituiu-se de sessões realizadas 5 vezes/ semana, por 8 semanas, nas quais o TF iniciou-se com curtos períodos de 15 a 20 min/ dia, progredindo até chegar a 1 h/ dia ao final da 3ª semana (Figura 1). Os animais dos grupos SHAMs e ICs foram mantidos sedentários por igual período de tempo, sendo colocados em esteira na velocidade de 0,3 km/h uma vez por semana, durante 10 min, de forma a permanecerem habituados à esteira e ao teste de esforço.

Durante o mesmo período de TF, o peso corporal dos animais foi acompanhado semanalmente (balança Acrimet, China).



Figura 1- Animais durante o treinamento físico em esteira rolante.

4.6 Pletismometria de pata

Para avaliar se os animais com IC apresentavam alteração do volume da pata e se o TF poderia melhorar essa condição, o volume da pata foi mensurado por hidropletismometria (modelo 7120 Plethysmometer, Ugo Basile, Italy). O pletismômetro é

constituído por dois tubos verticais interconectados, onde o tubo 1 (Figura 2B) é usado para inserir a pata do animal na solução e o tubo 2 (Figura 2B), que contém o transdutor, desenvolve um deslocamento proporcional ao volume mergulhado no tubo 1, medindo o deslocamento do líquido. Como os tubos são preenchidos por uma solução eletrolítica [solução de detergente neutro (1:100) contendo NaCl 0,05%] e, uma vez que o eletrodo do transdutor é sensível ao deslocamento da água, aos íons contidos na solução e à temperatura, o transdutor é capaz de detectar medidas de volume precisas.

Após a calibração do equipamento, foi realizada uma marcação na região posterior do tornozelo do animal, a fim de delimitar até onde a pata deveria ser imersa na solução. O animal foi confortavelmente contido e teve a pata imersa na solução até a marcação do tornozelo (Figura 2A). Dessa forma, o valor correspondente ao volume deslocado era fixado na tela do equipamento, permitindo o registro do volume da pata. Com o objetivo de obter medidas precisas, a pata foi mergulhada por três vezes, para se obter uma média dos valores. Dessa maneira, os dados foram expressos como a subtração da média do volume basal (mL), medido antes da cirurgia de infarto, da média do volume medido três meses após a cirurgia. Todas as medições foram feitas na mesma pata do animal, realizadas pelo mesmo pesquisador, no mesmo ambiente e sob a mesma temperatura (25° C).

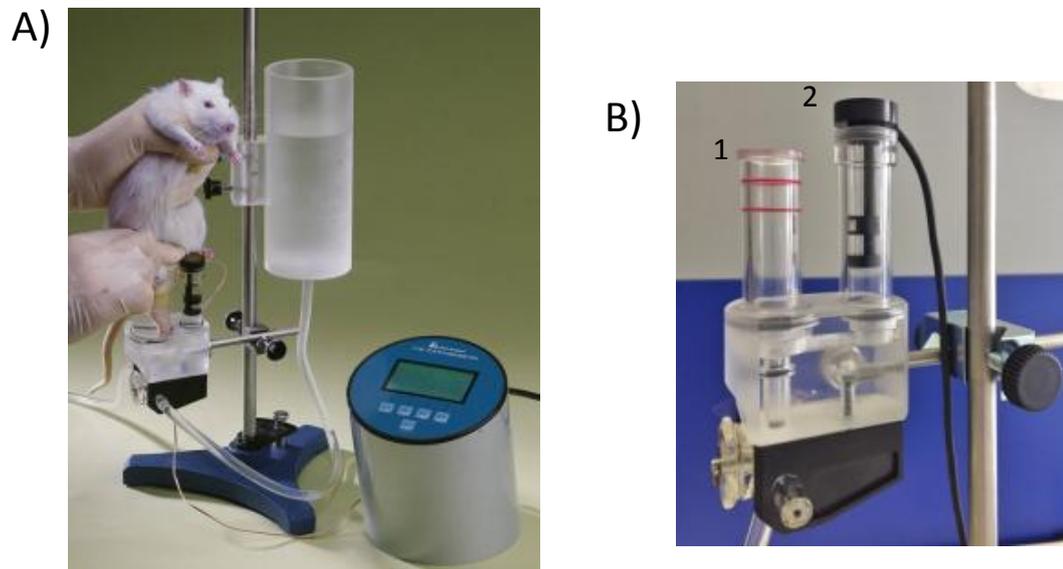


Figura 2 - Plethysmometria. A) Manuseio do animal durante a medida de volume de pata (hidroplethysmometria). B) Detalhe dos tubos 1 e 2. Fonte: http://www.ugobasile.com/media/catalogue/products/manuals/37140_R2.pdf.

4.7 Medidas hemodinâmicas

Ao final das 8 semanas de TF manteve-se um período de repouso de 48 h (BOZI et al., 2016; KEMI et al., 2013; ZANCHI et al., 2008), a partir do qual avaliou-se a hemodinâmica arterial e ventricular esquerda dos animais. Os mesmos foram anestesiados com uretana (1,6 g/kg; *i.p.*) e submetidos à canulação da artéria carótida direita, utilizando cateter de polietileno (PE-50) preenchido com solução de salina heparinizada (100U/ mL) a temperatura ambiente, como previamente descrito por Rossoni et al. (2006). Após canulação, o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão (TRA 021, PanLab, Espanha), ligado por sua vez, ao amplificador (ML224 Quad Bridge Amp, ADInstruments, New South Wales, Austrália), o qual está acoplado ao 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 dados foi de 1K/s.

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 desses parâmetros foi realizada pelo programa *Blood Pressure Module* (Chart 5 for Windows, ADInstruments New South Wales, Austrália). Após as medidas hemodinâmicas, os animais foram mortos por exsanguinação e os tecidos como coração, pulmões, músculo esquelético (sóleo e gastrocnêmio), tibia e artérias tibiais caudais foram coletados para as análises descritas a seguir.

4.8 Avaliação de hipertrofia cardíaca e da área de infarto

Os índices de hipertrofia dos ventrículos direito e esquerdo foram inferidos a partir da razão entre os pesos úmidos dos ventrículos direito e esquerdo sobre o comprimento da tibia, aferido com o uso de paquímetro e utilizando a balança de precisão (210A, Bel Engeneering, Brasil). Cabe ressaltar que o valor do peso do septo interventricular foi adicionado ao valor do VE. Após avaliação da hipertrofia cardíaca foi feita a quantificação da área de infarto. Para tal, foi realizada a separação da área infartada do restante do VE e, posteriormente, os tecidos foram escaneados 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 VE (MILL et al., 1990).

4.9 Avaliação do peso úmido dos músculos sóleo e gastrocnêmio

Os músculos sóleo e gastrocnêmio pertencentes à mesma pata a qual foram realizados os experimentos de hidropletismometria foram cuidadosamente dissecados e pesados utilizando a balança de precisão (210A, Bel Engineering, Brasil). Os valores foram expressos como a razão entre o peso de cada músculo (balança de precisão 210A, Bel Engineering, Piracicaba, SP, Brasil) e o comprimento da tibia, aferido com o uso de paquímetro analógico (Vonder, Curitiba, PR, BR)

4.10 Avaliação da congestão pulmonar

Uma das características clínicas que marca a IC é a retenção de líquidos no pulmão (GIVERTZ et al., 2005). Neste trabalho, a presença de congestão pulmonar foi inferida pela razão peso úmido do órgão e comprimento da tibia.

4.11 Reatividade vascular

A presente metodologia tem como objetivo avaliar a reatividade vascular em artéria tibial caudal de animais com IC e o efeito do TF. As artérias tibiais caudais direita e esquerda foram dissecadas com auxílio de lupa (Leica S6 E, Wetzlar, DE), livres do tecido conjuntivo, e colocadas em placa de Petri contendo solução de Krebs-Henseleit (KB) a 4° C (composição em 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). Em seguida, os vasos foram seccionados transversalmente em formato de anéis de aproximadamente 2 mm de comprimento.

Os experimentos de reatividade vascular foram realizados de acordo com o método descrito por Mulvany e Halpern (1977). Dessa forma, os segmentos das artérias tibiais caudais foram montados em miógrafo para registro de tensão isométrica (Figura 3A) (Modelo 610M, Danish Myo Tech, Dinamarca), o qual está conectado a um sistema de aquisição e registro de dados (PowerLab Chart 5.5.6, ADInstruments, Sydney, Austrália).

Após um período de estabilização de 15 min em solução de KB (pH 7,4, gaseificadas com mistura carbogênica de 95% O₂, 5% CO₂ e a 37° C), iniciou-se a normalização dos anéis vasculares, o qual consiste no estiramento dos mesmos a uma tensão de repouso considerada ótima em relação ao seu diâmetro interno. Essa tensão foi

determinada pela construção da curva circunferência interna/ tensão de parede de cada segmento (Figura 3B), e a circunferência interna (L) foi ajustada para 90% daquela a que os vasos seriam submetidos se estivessem a uma pressão transmural de 100 mmHg (13,3 kPa) (MULVANY; HALPERN, 1977). O diâmetro luminal efetivo (D) foi determinado de acordo com a equação $D = L/\pi$, onde π é uma constante que equivale à aproximadamente 3,14.

Após a normalização, os anéis vasculares permaneceram em repouso por 30 min e, em seguida, foi testada sua integridade funcional por meio de duas exposições ao cloreto de potássio (KCl, 120 mM). A média da diferença entre a tensão máxima desenvolvida e a tensão de repouso, após atingido um platô, correspondeu à tensão ativa máxima (mN/mm) desenvolvida por cada anel.

4.11.1 Avaliação das respostas de relaxamento dependente do endotélio e em resposta ao doador de NO

Após 30 min de acomodação das preparações no nível basal, foram realizadas curvas concentração-resposta ao agonista U46619, análogo do tromboxano A2 (a partir da concentração de 10^{-9} M) até atingir de 50-75% de contração em relação à resposta máxima contrátil ao KCl (120 mM). A função endotelial foi avaliada por meio do relaxamento induzido pelo agonista muscarínico acetilcolina (ACh, 100 nM – 30 μ M) (Figura 3C) e ao doador de NO, nitroprussiato de sódio (NPS, 1 ρ M – 3 μ M).

4.11.2 Avaliação da resposta vasoconstritora à noradrenalina

Após 60 min da curva de relaxamento à acetilcolina, foi realizada em alguns anéis vasculares uma curva concentração-resposta à noradrenalina (NOR, 100 nM – 30 μ M).

4.11.3 Avaliação da cinética do Ca^{2+}

Para avaliar o papel da cinética do Ca^{2+} foi utilizado um novo grupo experimental no qual foi estudado o papel da liberação do Ca^{2+} dos estoques intracelulares (Ca^{2+}_i) e o papel da mobilização de Ca^{2+} extracelular (Ca^{2+}_e) na contração em artéria tibial caudal, de acordo com Xavier et al. (2003).

Após a avaliação da viabilidade do músculo liso (contração induzida pelo KCl, 120 mM) e da vasodilatação dependente do endotélio (relaxamento à acetilcolina), os anéis

foram estabilizados por um período de 30 min no qual a preparação foi mantida em solução de KB. Em seguida, as artérias foram incubadas em solução livre de Ca^{2+} e contendo ácido etileno glicol tetraacético (EGTA, 1 mM) e mantidas por mais 15 min. Em seguida foi avaliada a contração ao agonista NOR (10^{-5} M). Com a adição de NOR foi produzida uma contração fásica de pequena intensidade (Figura 3D) e o pico de contração foi mensurado e correspondia à tensão produzida pela contração em meio livre de Ca^{2+} , representando de forma indireta a participação do Ca^{2+}_i na contração da artéria tibial caudal.

Na sequência foi aguardado um período de estabilização da tensão, então adicionou-se CaCl_2 (2,5 mM) na presença de NOR (10^{-5} M), de forma que a tensão produzida pela contração representa de forma indireta o transiente de influxo de Ca^{2+} (Ca^{2+}_e) da artéria tibial caudal (Figura 3D).

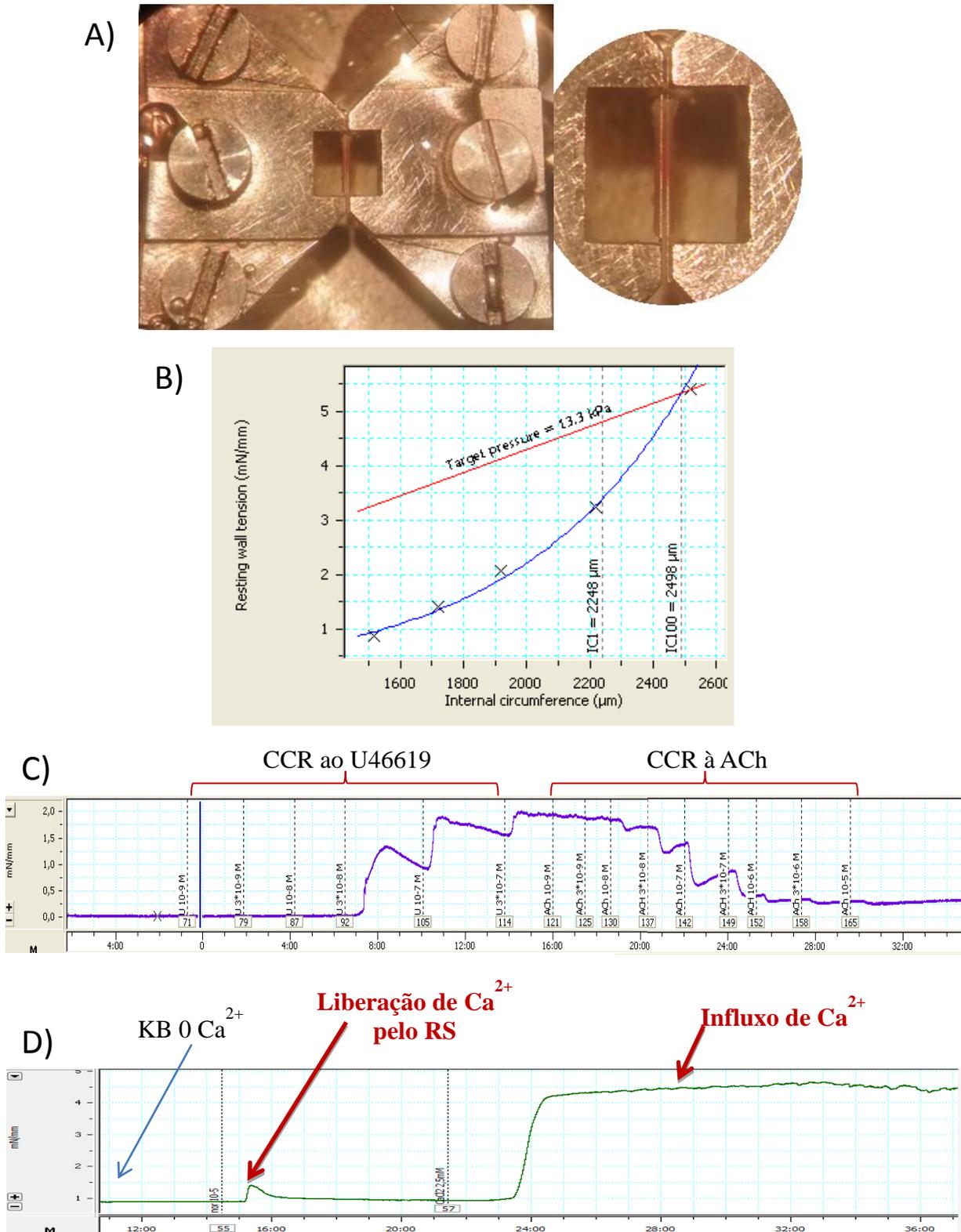


Figura 3 - Experimentos realizados no miógrafo de arame. **A)** Segmento de artéria tibial caudal montada em miógrafo de arame. **B)** Curva circunferência interna (IC)/ tensão de parede de um segmento construída até o valor de IC relativa à 100 mmHg (IC100) e normalizada para 90% da IC relativa à 100 mmHg (IC1). **C)** Registro típico da curva concentração-resposta (CCR) ao agonista U46619 seguido de CCR à acetilcolina (ACh). **D)** Registro típico das contrações referentes à liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático (RS) e ao influxo de Ca^{2+} extracelular em artérias de animais SHAMs.

4.12 Reatividade miogênica: propriedades mecânicas e estruturais

A reatividade miogênica foi estudada pela técnica de artérias pressurizadas. Com a realização dessa técnica, objetivamos avaliar os ajustes da função miogênica de artéria de resistência do músculo esquelético decorrentes da IC, o efeito do TF e a avaliação dos mecanismos envolvidos. Após serem dissecadas com auxílio de lupa (Leica L2, Micro systems Ltd., Alemanha), retirado o tecido conjuntivo circundante e cortadas em segmentos de aproximadamente 3 mm, as artérias foram montadas em miógrafo de pressão (DMT, modelo 115 FP, Aarhus, Dinamarca). As artérias tiveram suas extremidades canuladas com micropipetas de vidro (com diâmetro de aproximadamente 100 μm) e amarradas com fio de sutura de nylon. Em seguida, na medida em que se elevou a pressão intraluminal até 140 mmHg, ajustou-se o comprimento da artéria de forma que se obtivesse um estiramento ideal e o paralelismo entre as paredes da artéria. Nesse momento, as artérias que apresentaram eventual vazamento e por isso não se encontraram adequadamente pressurizadas, foram substituídas ou eliminadas (Figura 4A).

Para a visualização do experimento, o banho de órgãos contendo a artéria foi conectado a um microscópio invertido (Nikon TS-100F, USA) equipado com uma câmera de vídeo, e o software MyoVIEW II (DMT, versão 1, Dinamarca) foi utilizado para medir os diâmetros interno (D_i) e externo (D_e) (Figura 4B).

As artérias permaneceram imersas em solução de KB, gaseificada com 5% CO_2 e 95% O_2 , mantida em pH 7,4 e temperatura de 37 °C, sob a pressão intraluminal de 70 mmHg, a fim de passarem por um período de estabilização de 60 min. Durante esse período a solução foi trocada a cada 15 min e pôde-se observar que todas as artérias desenvolveram um tônus espontâneo de equilíbrio. Após a estabilização, a viabilidade da maquinaria contrátil do músculo liso vascular foi testada pela adição de KCl (120 mM) ao banho. As artérias que não exibiram resposta contrátil ao estímulo despolarizante, foram eliminadas.

Após um período de 15 min, a pressão intraluminal foi reduzida a 3 mmHg e uma curva pressão-diâmetro foi realizada aumentando-se a pressão intraluminal de 3-140 mmHg com incrementos de 20 mmHg entre as pressões de 20 e 140 mmHg, em intervalos de no mínimo 5 min de duração (Figura 4C).

Após a realização da curva de pressão, a solução nutritora foi trocada por uma solução livre de Ca^{2+} contendo EGTA (10 mM) e aguardado 20 min para completo relaxamento da preparação à pressão de 70 mmHg. Após esse período, adicionou-se

novamente KCl (120 mM) ao banho a fim de assegurar a depleção dos estoques intracelulares de Ca^{2+} .

Após a lavagem da preparação e 20 min de estabilização em solução livre de Ca^{2+} , a pressão intraluminal foi reduzida a 3 mmHg e uma nova curva pressão-diâmetro foi realizada com o mesmo padrão da descrita anteriormente (Figura 4D). Por meio dessa curva foi possível investigar o estiramento passivo das preparações.

O efeito do inibidor da Rho-kinase (Y-27632, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) sobre a resposta miogênica foi determinado por experimentos adicionais nos quais, após realizada a primeira curva de pressão-diâmetro em solução de KB com cálcio (2,5 mM), incubou-se os anéis com o Y-27632 (1 mM) (ALLAHDADI et al., 2011; JOHNSON et al., 2009; WENCESLAU et al., 2014) durante 30 min na solução de Krebs na qual a artéria estava imersa. Após esse período a mesma curva de pressão-diâmetro foi repetida em presença do inibidor e na sequência, uma nova curva foi realizada em solução livre de Ca^{2+} contendo EGTA (10 mM). Por meio dessa manobra farmacológica foi possível investigar o fenômeno da sensibilização ao Ca^{2+} nas preparações.

Para cada valor de pressão intraluminal, ao final dos 5 min, os diâmetros interno (D_i) e externo (D_e) foram mensurados.

Cálculos da constrição miogênica (CM) das artérias: expresso como diminuição percentual do diâmetro interno em uma dada pressão da curva realizada em presença de Ca^{2+} quando comparado ao diâmetro interno da mesma pressão da curva realizada em solução livre de Ca^{2+} (diâmetro passivo). Assim, $\text{CM}(\%) = 100[(D_{i0\text{Ca}} - D_{i\text{Ca}})/ D_{i0\text{Ca}}]$, onde $D_{i\text{Ca}}$ é o diâmetro interno em solução de Krebs com Ca^{2+} e $D_{i0\text{Ca}}$ sem Ca^{2+} .

Cálculo das propriedades mecânicas e estruturais das artérias: os cálculos dos diâmetros interno (D_i) e externo (D_e), utilizados para o cálculo dos parâmetros estruturais e mecânicos arteriais, foram realizados em condições passivas (solução Krebs sem Ca^{2+} , 0Ca).

Assim, foram calculados *Espessura da parede (EP)*: $EP = (D_{e0\text{Ca}} - D_{i0\text{Ca}})/2$; *Área de secção transversal (AST)*: $AST = (\pi/4) \times (D_{e0\text{Ca}} - D_{i0\text{Ca}})$; *Relação parede/luz (P/L)*: $P/L = (D_{e0\text{Ca}} - D_{i0\text{Ca}})/(2 \times D_{i0\text{Ca}})$; *Distensibilidade arterial*: $(\Delta D_{i0\text{Ca}})/(D_{i0\text{Ca}} \times \Delta P) \times 100$, a qual representa o percentual de variação do diâmetro interno para cada valor de pressão intraluminal; *Strain (ε)*: representa a variação nas dimensões da artéria (deformação, ε) em consequência de uma dada tensão aplicada. $\varepsilon = (D_{i0\text{Ca}} - D_{00\text{Ca}})/ D_{00\text{Ca}}$, no qual $D_{00\text{Ca}}$ é o diâmetro observado à 3 mmHg e $D_{i0\text{Ca}}$ para um dado valor de pressão intraluminal sob condições de relaxamento completo. O valor de $D_{00\text{Ca}}$ foi medido a 3 mmHg devido à

dificuldades metodológicas em determinar o diâmetro interno em valores de pressão intraluminal inferiores a 3 mmHg. *Stress* (σ): tensão (medida por unidade de área) produzida na parede arterial frente a alterações da pressão intraluminal, do diâmetro interno e da espessura da parede, $\sigma = P \cdot Di_{0Ca} / 2EP$, onde P é a pressão intraluminal (1 mmHg = 133,4 N/m²) e EP é a espessura da parede arterial para cada valor de pressão intraluminal em solução Krebs sem Ca²⁺. *Rigidez arterial independente da geometria*: é determinada pelo módulo elástico de Young, o qual pode ser expresso pela relação entre tensão e deformação ($E = \text{Stress} / \text{Strain}$). No caso de vasos sanguíneos, a relação *stress-strain* exibe um comportamento curvilíneo. Dessa forma, é mais apropriado calcular a relação tangencial ou *incremental elastic modulus* (E_{inc}), o qual pode ser determinado pela inclinação (β) da curva *stress/strain* rigidez (DOBRIN, 1978). $E_{inc} = \delta\sigma / \delta\varepsilon$, de modo que o E_{inc} foi calculado plotando os dados obtidos de *stress* e *strain* para cada experimento, utilizando a equação exponencial: $\sigma = \sigma_{orig} e^{\beta\varepsilon}$, no qual σ_{orig} representa o stress de parede para o valor inicial de diâmetro (diâmetro a 3 mmHg). De acordo com a derivação das equações acima, é possível demonstrar que $E_{inc} = \beta\sigma$. Para um dado valor de σ , E_{inc} é diretamente proporcional a β . Um aumento β implica um aumento em E_{inc} , o qual representa um aumento da rigidez (DOBRIN, 1978).

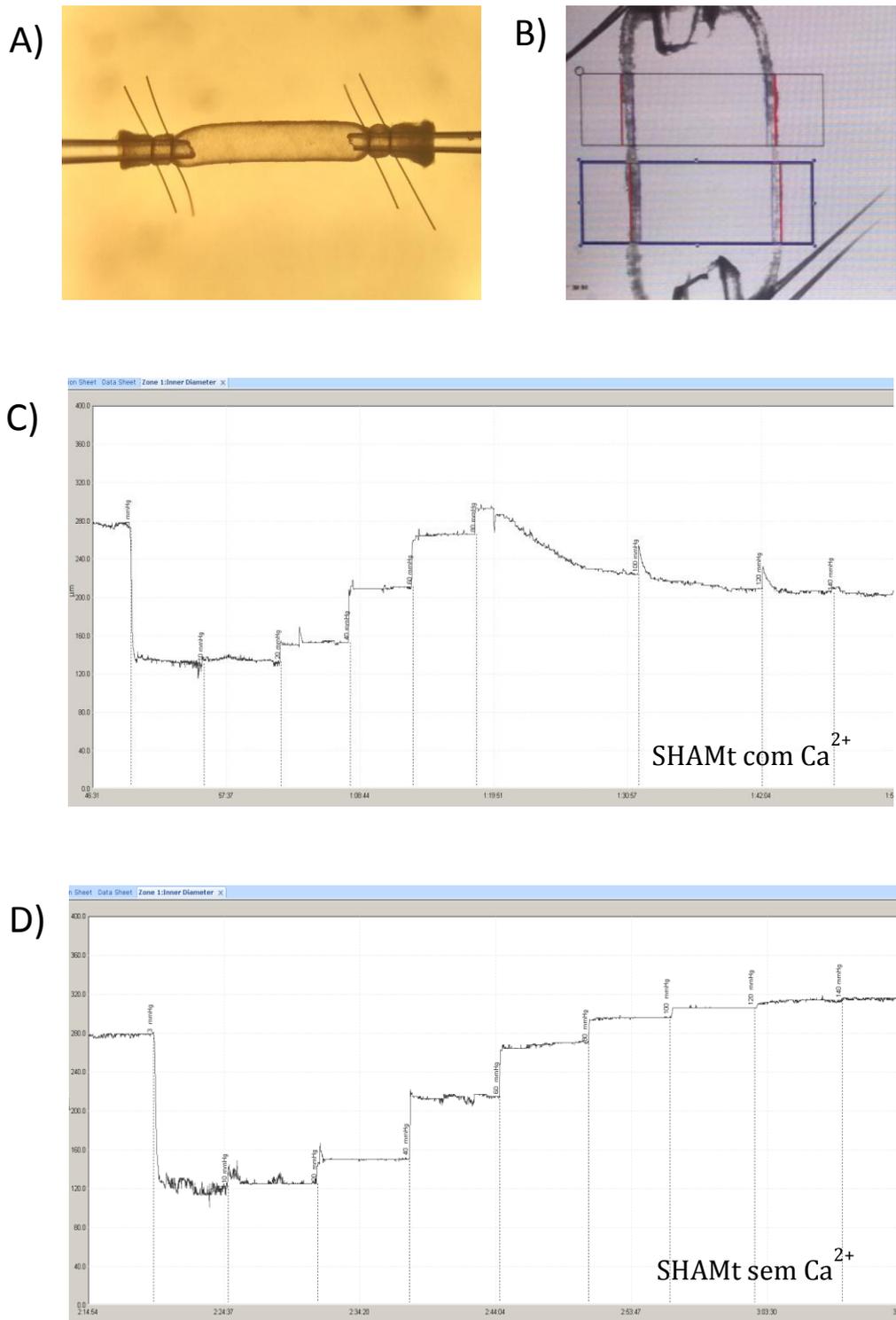


Figura 4 - Experimento realizado no miógrafo de pressão. **A)** Imagem do segmento de artéria tibial caudal montada em miógrafo de pressão pressurizada a 140 mmHg, obtida em objetiva de 4x. **B)** Artéria durante registro experimental de diâmetro interno (cursor em azul) e diâmetro externo (cursor em vermelho). **C)** Registro típico de curva pressão-diâmetro nas condições ativa (em presença de Ca^{2+}) e **D)** passiva (na ausência de Ca^{2+} e presença de EGTA 10 mM).

4.13 Western blotting

As artérias tibiais caudais foram limpas e as amostras foram agrupadas em 5 artérias para um único valor de “N”. As artérias foram homogeneizadas em tampão de lise RIPA imerso em gelo (Merck Milipore, Billerica, MA, EUA), o qual contém inibidores de protease tais como: ortovanadato de sódio (100 mM/L; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), fluoreto de fenil metano sulfonil (PMSF, 10 mmol/L; 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 (100 mmol/L; Synth, São Paulo, Brasil) e pirofosfato de sódio (10 mmol/L; Synth, São Paulo, Brasil).

Os homogenatos foram centrifugados (800 g por 15 min a 4 °C) e o sobrenadante foi isolado. As proteínas foram quantificadas por espectofotometria, em seguida foram extraídas (20 µg), 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 h a 4 °C usando um Mini Trans-Blot Cell system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) contendo tampão de transferência (Tris, 25 mmol/L; glicina 190 mmol/L; 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 h a 4 °C com anticorpo primário anti fosfolambano (PLB) (1:1000, Merck Milipore, Darmstadt, DE), anti SERCA2 (1:500, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), anti ROCK II (1:1000, Abcam, Cambridge, UK), anti Ca_v1.2 (1:8000, Alomone, Jerusalém, IL), anti PKC (1:400, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) e anti α -actina (1:10000; 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 PLB, PKC e α -actina; anticorpo IgG anti *rabbit* conjugado com peroxidase (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) para ROCK e Ca_v1.2 e anticorpo IgG anti *goat* conjugado com peroxidase (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) para SERCA. Como controle positivo foi utilizado coração de rato e a expressão da α -actina foi usada para normalizar a expressão de PKC, ROCK e Ca_v1.2.

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 a filme radiográfico (Kodak

BioMax MR film, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Os sinais de imunoblot foram quantificados usando o programa Scion Image (Scioncorp, NIH, Bethesda, MD, USA).

4.14 Drogas e diluições

Todos os sais utilizados no preparo da solução de Krebs-Henseleit foram adquiridos da Synth (Brasil). As drogas: ACh (cód. A6625), NPS (cód. S0501), NOR (cód. A7256), U46619 (cód. D8174), Y-27632 (cód. Y0503), EGTA (E3889), utilizadas no presente estudo, foram adquiridas da Sigma-Aldrich (EUA). Todas as drogas foram diluídas em água destilada, exceto o U46619 que foi diluído em etanol. As soluções-estoque foram mantidas a -20 °C e as diluições a serem utilizadas foram preparadas antes de cada lote de experimentos.

4.15 Expressão dos dados e análise estatística

Os resultados das curvas de concentração resposta foram calculados como tensão vascular ativa (aumento da força a partir da tensão basal dividida por duas vezes o comprimento de cada segmento arterial, mN/mm) (MULVANY; HALPERN, 1977). Os resultados das curvas concentração-resposta aos agentes vasodilatadores (acetilcolina e nitroprussiato de sódio) foram expressos como porcentagem de contração em relação ao valor da pré-contração ao U46619. A resposta vasoconstritora induzida por NOR foi calculada e expressa como tensão vascular ativa (mN/mm) (MULVANY E HALPERN, 1977).

O resultado da contração à NOR referente à cinética do Ca^{2+}_i foi mensurado no pico de contração, sendo calculado e expresso como a tensão vascular ativa (mN/mm) e a contração referente ao influxo de Ca^{2+} foi calculado como a tensão vascular ativa (mN/mm) no platô de contração alcançado em resposta ao $CaCl_2$ em presença de NOR.

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

5 RESULTADOS

5.1 Obtenção dos modelos experimentais e mortalidade

Todos os resultados apresentados no presente estudo são referentes aos animais que, tendo completado o protocolo de sedentarismo ou de treinamento físico e forneceram dados de fração de ejeção do VE, BNP plasmático, valores hemodinâmicos, morfométricos do VD, VE, pulmão e dimensões da área de infarto compatíveis com as condições controle e IC. Os animais que não se enquadraram nesses parâmetros foram excluídos do estudo.

Como pode ser observado no organograma da Figura 5, houve uma mortalidade bastante acentuada com a indução do IM nos animais, 25 animais SHAM vs. 396 animais com IM (SHAM, 14,5 vs. IM, 58 % de mortalidade). Além disso, ocorreram mortes também em decorrência à anestesia e ao transporte para o exame ecocardiográfico. Como resultado da avaliação da análise da fração de ejeção e do BNP plasmático, um total de 90 animais foram excluídos do grupo infartado, resultando em 94 animais infartados sedentários e 90 animais infartados treinados. Contudo, ao final das 8 semanas de TF, quando foram avaliados os parâmetros hemodinâmicos e morfométricos, 27 animais foram excluídos do grupo infartado sedentário e 30 animais do grupo infartado treinado por não se adequarem aos parâmetros compatíveis com a insuficiência cardíaca.

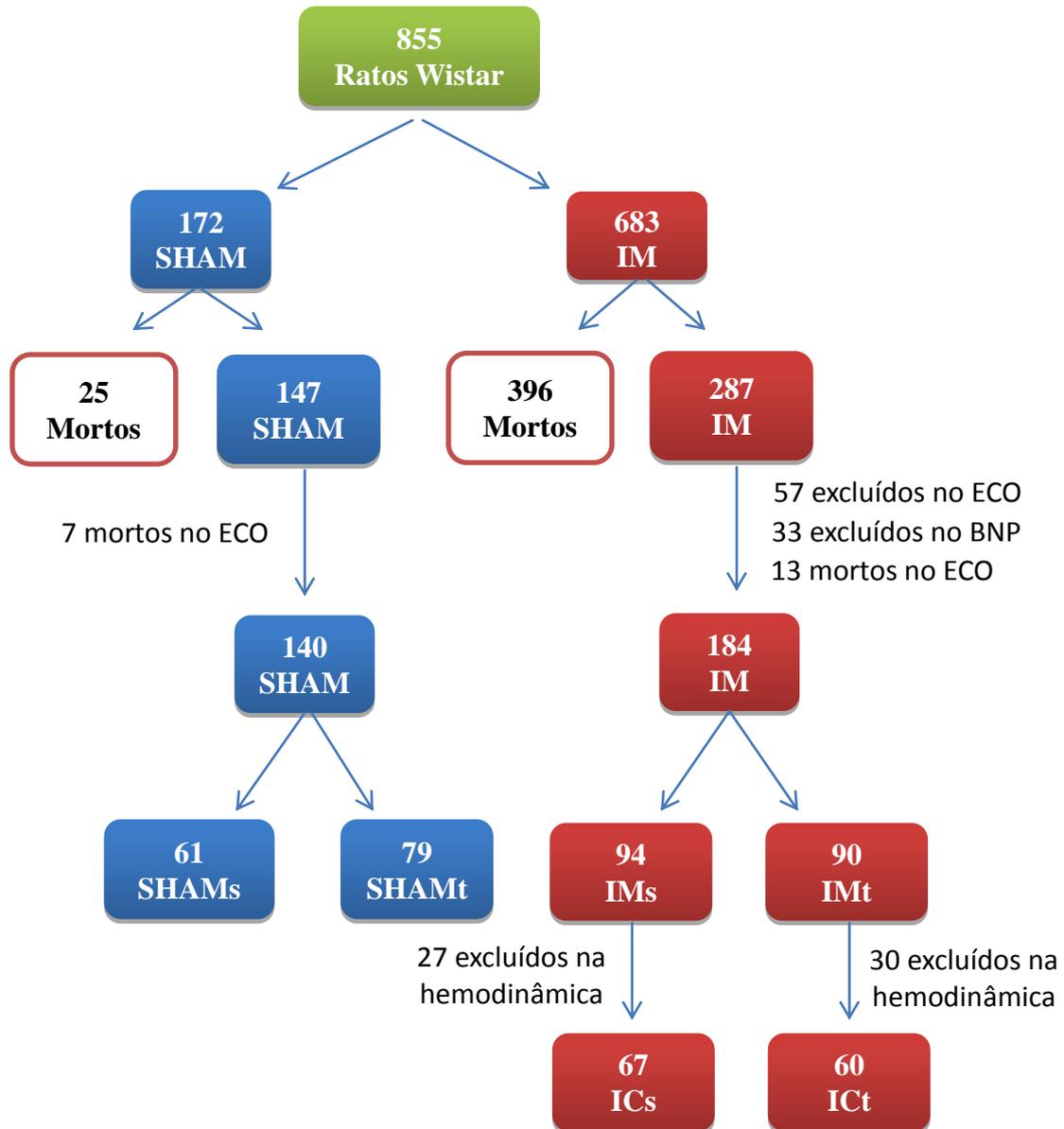


Figura 5 - Organograma de sobrevivência e mortalidade dos grupos experimentais. Os animais descritos acima foram utilizados na obtenção de resultados da presente tese, no projeto que avaliou a reatividade em coronárias, incluído no mesmo comitê de ética, e em projeto estudando tecido adiposo perivascular em aorta (CEUA 053/2014).

5.2 Avaliação da função ventricular e do ganho de peso corporal

Com o objetivo de avaliar a função ventricular antes do TF, a fração de ejeção do VE (FEVE), a concentração plasmática de BMP e o ganho de peso corporal foram avaliados após 4 semanas da cirurgia de indução do IM.

Nos animais pertencentes ao primeiro lote experimental observou-se uma correlação negativa significativa entre as variáveis área de infarto e FEVE (Figura 6A). Assim, de acordo com essa correlação, corações de animais com área de infarto superior a 30%, apresentariam a FEVE em torno de 30 a 35 %, uma vez que se sabe que em corações com áreas de infarto cobrindo mais de 30% de superfície ventricular observa-se disfunção ventricular esquerda em decorrência de remodelamento cardíaco (MILL et al., 1990; STEFANON et al., 1994). Dessa forma, para os demais lotes experimentais do presente trabalho, estabeleceu-se uma linha de corte onde os animais que apresentassem uma FEVE superior a 35 % seriam excluídos do estudo. A Figura 6B representa o gráfico dos animais que foram incluídos no estudo, observando-se uma redução significativa nos animais alocados ao grupo IC quando comparados com os grupos SHAM (Figura 6B).

Além do mais, a concentração plasmática de BNP apresentou-se significativamente maior no grupo IC (Figura 7A). Após avaliação de cada grupo experimental observou-se que animais infartados que apresentaram BNP plasmático em torno de 0,3 ng/mL apresentavam área de infarto superior a 30 % e esses foram incluídos no estudo.

Quanto ao ganho de peso corporal o mesmo apresentou-se significativamente reduzido nos IC quando comparado com o grupo SHAM (Figura 7B). Nesse sentido, animais infartados com ganho de peso semelhante ao do grupo SHAM foram excluídos do estudo após análise em conjunto os parâmetros citados acima, FEVE e BNP.

Além da FEVE, do BNP plasmático e do ganho de peso corporal, ao final do protocolo experimental, os animais que não apresentaram área de infarto igual ou superior a 30% ou parâmetros hemodinâmicos e morfométricos compatíveis com a condição de IC, também foram excluídos do estudo.

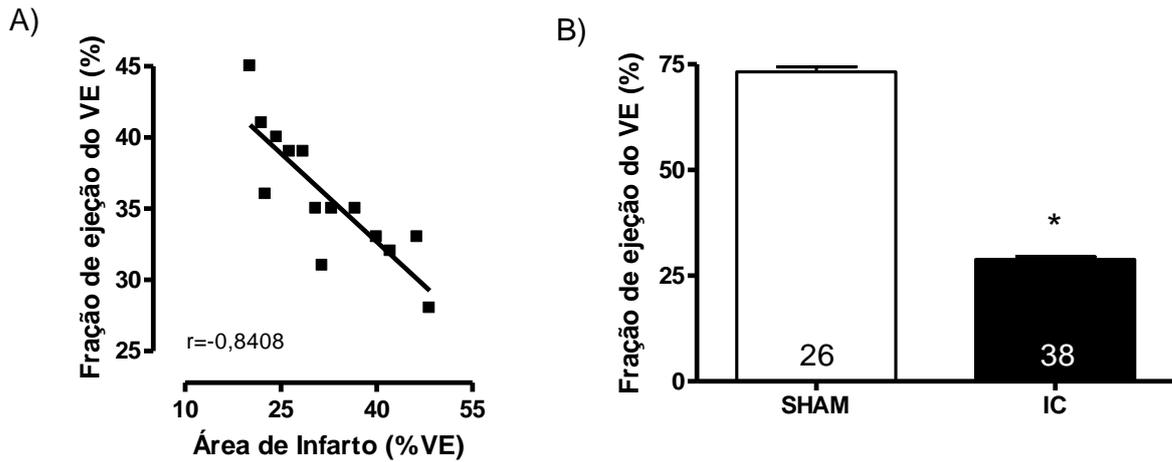


Figura 6 - Correlação entre a área de infarto e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo. (A) Correlação negativa entre a área de infarto do ventrículo esquerdo (VE) e a fração de ejeção do VE dos animais submetidos à cirurgia de oclusão da artéria coronária descendente anterior. Correlação de Pearson ($r = -0,8408$ e $R^2 = 0,7069$ ($N = 14$)). (B) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (VE) obtidas por meio de exame ecocardiográfico transtorácico dos animais dos grupos SHAM e IC após 4 semanas de pós-operatório. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se dentro das barras. Análise estatística: Teste t de Student; $*p < 0,05$ vs. SHAM.

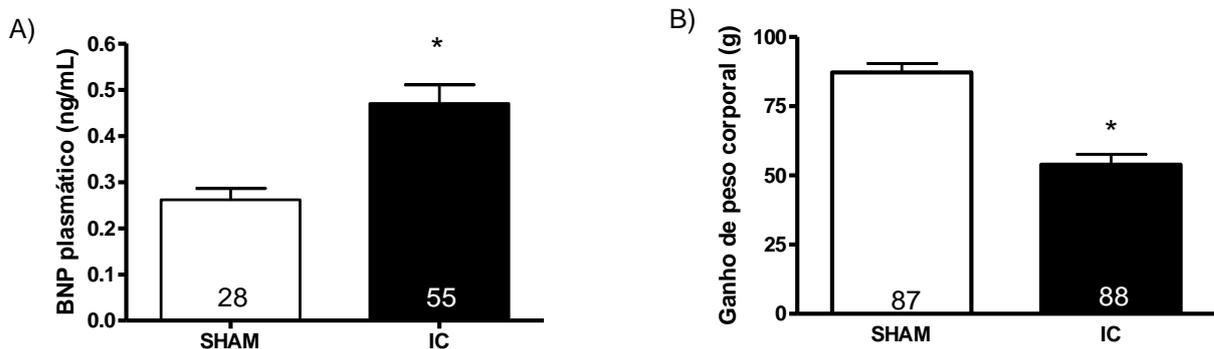


Figura 7 - BNP plasmático e ganho de peso corporal. Gráficos referentes ao BNP plasmático (A) dos animais dos grupos SHAM e IC após 4 semanas de pós-operatório e ao ganho de peso corporal (B, peso na 4ª semana pós-IM – dia da cirurgia). Os resultados estão expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se dentro das barras. Análise estatística: Teste t de Student; $*p < 0,05$ vs. SHAM.

5.3 Evolução do peso corporal e eficácia do treinamento físico

Os animais alocados nos quatro grupos apresentaram aumento de massa corporal em relação à semana zero de TF (Figura 8A). O peso corporal, tanto na semana 0 como ao final das 8 semanas de TF, foi significativamente menor nos animais ICs quando comparados com os SHAMs. Além disso, os animais treinados, tanto SHAM quanto IC, apresentaram uma redução do peso corporal se comparados com os respectivos sedentários.

A eficácia do TF foi avaliada tomando-se por parâmetro a distância máxima percorrida mensurada por meio de testes de esforço escalonados realizados nas semanas 0, 4 e 8 do protocolo de TF em esteira ergométrica.

Como se pode observar na figura 8B, inicialmente, tanto os animais do grupos SHAM como do IC, sedentário e treinado, apresentaram um desempenho físico semelhante no início do período de treinamento (semana 0), porém o grupo IC apresentou uma queda do desempenho físico quando comparado com o grupo SHAM levando-se em consideração a distância percorrida durante o teste de esforço.

Ao longo das 8 semanas de TF em esteira rolante observou-se um aumento significativo do desempenho dos animais SHAMt e ICt quando comparado aos animais SHAMs e ICs, respectivamente (Figura 8B). Contudo, ao longo das semanas de treinamento, ainda observa-se uma redução significativa da distância percorrida dos animais IC quando comparados com SHAM, tanto sedentários como treinados.

Tomados em conjunto, esses resultados demonstram a eficácia do protocolo de TF e que a IC parece afetar a capacidade dos animais correrem em esteira ergométrica, mas que, ainda assim, pode-se observar uma melhora do desempenho físico mesmo em face das limitações próprias da IC.

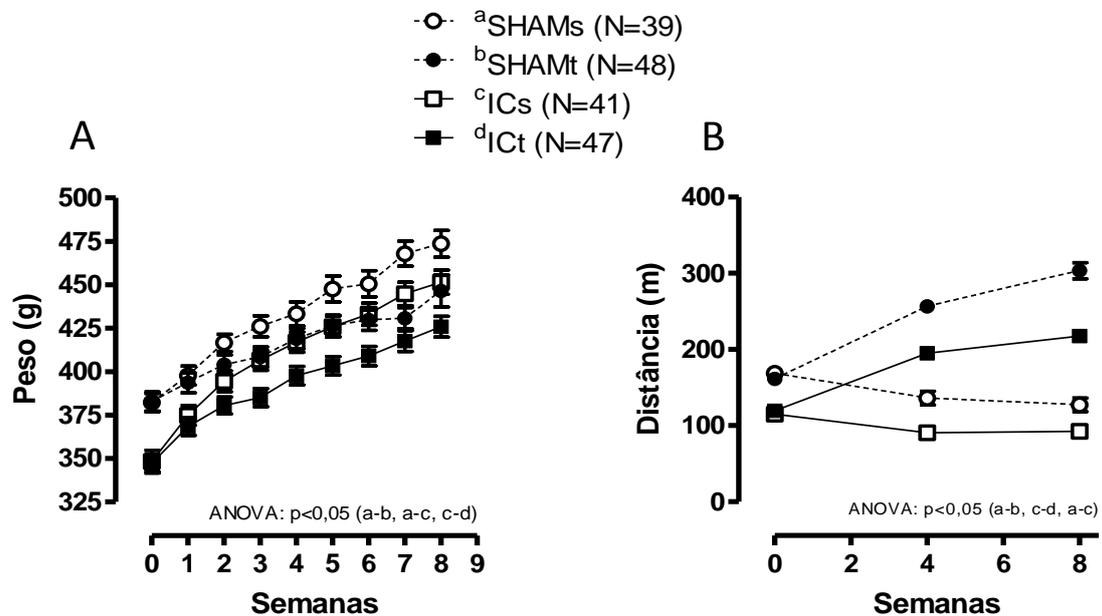


Figura 8 - Peso corporal e efeito do treinamento físico aeróbio. (A) Ganho de peso corporal ao longo das 8 semanas de treinamento e (B) distância percorrida durante o teste de esforço escalonado realizado nos animais dos grupos falso operados (SHAM) e insuficiente cardíaco (IC) ao longo das 8 semanas do protocolo de sedentarismo (s) ou treinamento físico (t) em esteira ergométrica. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. O número de animais utilizados em cada grupo (N) encontra-se entre parênteses. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

5.4 Avaliação do volume da pata

Sabendo-se que o edema bilateral de membros inferiores é um sinal de congestão em pacientes com IC (FONSECA et al., 2004; KATAOKA, 2013), o presente estudo investigou se haveria alteração do volume da pata dos animais IC e se o TF seria capaz de melhorar.

A avaliação do edema em membros inferiores por mensuração do deslocamento da água é considerado padrão de referência para outros métodos (PERRIN; GUEX, 2000) e tem sido aplicado em trabalhos com humanos relacionados com edema em estudo de insuficiência venosa crônica (KRIJNEN, et al., 1997), em trabalho avaliando edema e lesão de tornozelo (HENSCHKE et al., 2006), e em animais é bastante utilizado em estudos de inflamação de pata induzida por carragenina (ASSREUY et al., 2012; YSHII et al., 2009).

Como observado na figura 9, após 12 semanas da cirurgia de IM, os animais com IC, mantidos no grupo sedentário (ICs) apresentaram aumento do volume da pata quando comparado com os animais SHAM. Contudo o TF foi capaz de reverter esse aumento do volume da pata nos animais ICt. Vale salientar que antes da cirurgia para obtenção dos modelos experimentais não se observou diferença entre o volume das patas dos animais.

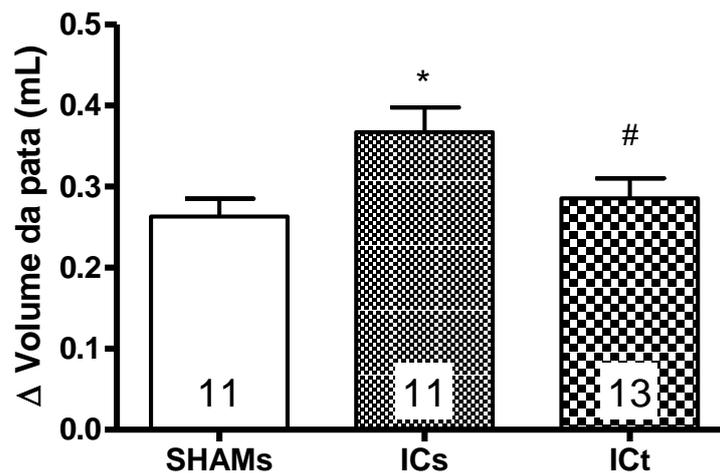


Figura 9 - Variação do volume da pata. Medida da variação do volume da pata expresso como a diferença da média do volume basal (mL), medido antes da cirurgia de infarto, da média do volume medido 12 semanas após a cirurgia dos grupos SHAM sedentário, IC sedentário (ICs) e treinado (ICt). Os resultados estão expressos como média ± EPM. O número de animais utilizados em cada grupo (N) encontra-se entre parênteses ou no interior das barras. Análise estatística: ANOVA 1-via; *p<0,05 vs. SHAMs e #p<0,05 vs. ICs.

5.5 Medidas hemodinâmicas

Foram realizadas medidas hemodinâmicas ao final das 8 semanas de protocolo de treinamento aeróbico em esteira ergométrica em todos os animais SHAM e IC (sedentários e treinados). Como demonstrado na tabela 1, os valores de pressão arterial sistólica (PAS) encontraram-se reduzidos nos animais ICs e ICt quando comparados aos seus respectivos SHAM, enquanto que os da pressão arterial diastólica (PAD) apresentam-se elevados quando comparados aos controles. A frequência cardíaca (FC) não modificou entre os grupos e o TF não alterou esses parâmetros (Tabela 1).

A pressão sistólica do VE (PSVE), bem como a primeira derivada de pressão pelo tempo positiva (dP/dt+) e a derivada de pressão do VE em função do tempo negativa (dP/dt-), encontraram-se significativamente reduzidas nos IC quando comparados aos SHAM; por sua vez, a pressão diastólica final do VE (PDfVE) mostrou-se significativamente aumentada nos IC quando comparados aos respectivos controles, o que sugere um prejuízo da função do VE (Tabela 1). O TF não alterou esses parâmetros.

Tabela 1 - Parâmetros hemodinâmicos. Parâmetros hemodinâmicos arteriais e no ventrículo esquerdo dos animais dos grupos SHAM sedentários e treinados (SHAMs e SHAMt) e IC sedentários e treinados (ICs e ICt) após 8 semanas de sedentarismo ou treinamento físico em esteira ergométrica.

	SHAMs (51)	SHAMt (51)	ICs (56)	ICt (51)
PAS (mmHg)	127±2	126±1	108±1 *	107±1 ⁺
PAD (mmHg)	67±2	68±2	74±2*	74±2 ⁺
FC (bpm)	353±5	341±6	339±5	335±6
PSVE (mmHg)	142±2	140±2	120 ±2*	119±2 ⁺
PDfVE (mmHg)	5,06±0,44	5,86±0,34	11,77±1,10*	12,39±0,93 ⁺
dP/dt+ (mmHg/s)	8021±195	7734±203	5758±144*	5548±126 ⁺
dP/dt- (mmHg/s)	-4686±110	-4660±116	-4083±99*	-3971±95 ⁺

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: ANOVA 2-vias; *p<0,05 vs.SHAMs, ⁺p<0,05 vs .SHAMt.

5.6 Medidas morfométricas

Para análise dos dados morfométricos utilizou-se como parâmetro de correção o comprimento da tíbia (Tabela 2) uma vez que esse valor apresentou maior homogeneidade entre os grupos se comparado ao peso corporal (Figura 7). A partir dessas correções foi possível observar um aumento significativo da razão entre o peso do ventrículo direito e o comprimento da tíbia (VD/T), bem como da razão entre o peso do pulmão e o comprimento da tíbia (Pulmão/T) tanto de animais ICs quanto de ICt quando comparados aos animais SHAMs e SHAMt, respectivamente (Tabela 2). Juntos, esses resultados de congestão pulmonar e sugerem sobrecarga do VD. Além disso, apesar da presença de uma grande área de infarto (Tabela 2), não houve alteração da razão peso do VE e o comprimento da tíbia (VE/T) entre os grupos, dados que levam a inferir que houve remodelamento cardíaco com hipertrofia do miocárdio remanescente (Tabela 2).

Associados aos parâmetros hemodinâmicos, morfométricos e de distância percorrida, os presentes resultados sugerem que os animais se encontram com alterações compatíveis com quadro de IC.

Como também pode ser observado na Tabela 2, após as 8 semanas de sedentarismo ou TF não houve alteração referente à razão peso do músculo sóleo pelo comprimento da tíbia (Sóleo/T) nem com relação à IC nem ao treinamento físico. A razão do peso do músculo gastrocnêmio pelo comprimento da tíbia (Gastrocnêmio/T) também não modificou com a IC, porém observou-se que houve uma perda significativa de massa relativa nos animais ICt. No entanto quando avaliada a razão dos pesos dos músculo sóleo pelo peso corporal, assim como do gastrocnêmio, nenhuma diferença era observada entre os grupos experimentais estudados (dados não mostrados).

Tabela 2 - Parâmetros morfométricos. Valores morfométricos dos animais dos grupos SHAM sedentários e treinados (SHAMs e SHAMt) e IC sedentários e treinados (ICs e ICt) após 8 semanas de sedentarismo ou treinamento físico em esteira ergométrica.

	SHAMs (50)	SHAMt (48)	ICs (53)	ICt (49)
Tíbia (mm)	41,60±0,15	41,35±0,15	41,50±0,17	41,16±0,15
VD/T (mg/mm)	5,25±0,12	5,33±0,28	12,49±0,41*	11,51±0,40 ⁺
VE/T (mg/mm)	19,22±0,25	19,18±0,24	18,59±0,42	18,59±0,42
Pulmão/T (mg/mm)	50,10±1,91	48,32±2,68	87,06±2,93*	81,25±3,27 ⁺
Área de infarto (% VE)	-	-	39,43±0,65	39,68±0,74
Sóleo/T (mg/mm)	4,86±0,18 (6)	4,05±0,38 (8)	4,51±0,23 (5)	3,95±0,59 (5)
Gastrocnêmio/T (mg/mm)	64,60±2,09 (6)	59,24±2,35 (8)	65,21±3,10 (5)	56,37±1,32 [#] (5)

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; Sóleo/T, razão entre o peso úmido do músculo sóleo e o comprimento da tíbia; Gastrocnêmio /T, razão entre o peso úmido do músculo gastrocnêmio e o comprimento da tíbia. Os dados estão expressos como média±EPM. O número de animais utilizados em cada grupo está entre parêntesis. Análise estatística: ANOVA 2-vias; *p<0,05 vs. SHAMs, ⁺p<0,05 vs. SHAMt, [#]p<0,05 vs. ICs.

5.7 Reatividade vascular

Observou-se que a IC reduziu o nível de contração máxima ao KCl nas artérias tibiais caudais quando comparado com artérias de animais SHAM. Entretanto, o TF não alterou o nível de contração nos grupos estudados [SHAMs: 3,01 ± 0,12 mN/mm (N=12); SHAMt: 2,77 ± 0,12 mN/mm (N=12); ICs: 2,67 ± 0,21* mN/mm (N=12); ICt: 2,40 ± 0,11* mN/mm (N=12)] *p<0,05 vs SHAMs.

5.7.1 Resposta vasodilatadora dependente do endotélio e em resposta ao doador de NO em artéria tibial caudal

Na resposta vasodilatadora dependente do endotélio, avaliada por meio da construção da curva concentração resposta à ACh, em anéis de artéria tibial caudal (Figura 10A) dos animais sedentários e treinados pertencentes aos grupos SHAM e IC, observou-se um relaxamento de maneira dependente da concentração utilizada em todos os grupos estudados. Não houve diferença significativa entre os grupos.

Quando avaliada a vasodilatação mediada pelo NPS, doador de NO, utilizado em anéis de artéria tibial caudal (Figura 10B) com endotélio preservado de ratos sedentários e

treinados pertencentes aos grupos SHAM e IC, verificou-se que a resposta vasodilatadora não diferiu entre os grupos, indicando que nem a IC, nem o TF parecem afetar o mecanismo de relaxamento do músculo liso vascular ativado pela via da guanilato ciclase solúvel.

5.7.2 Resposta contrátil induzida por noradrenalina em artéria tibial caudal

Foram realizadas curvas concentração resposta à NOR em anéis isolados de artéria tibial caudal (Figura 10C) dos quatro grupos experimentais, nos quais se observou uma contração à NOR na dependência da concentração do agonista utilizado em todos os grupos. Entretanto, nem a IC nem o TF modificaram a resposta contrátil.

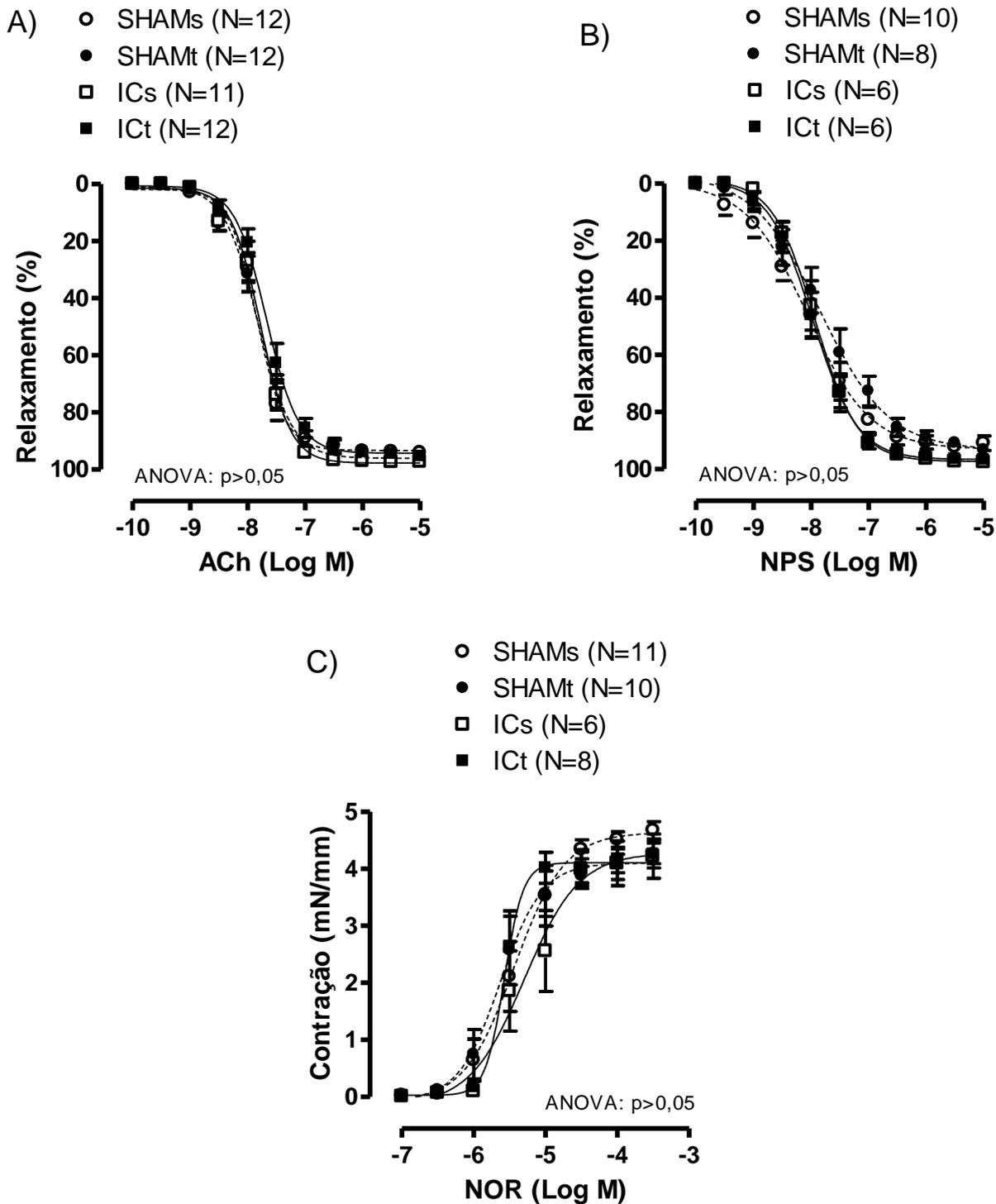


Figura 10 - Relaxamento induzido por acetilcolina, nitroprussiato de sódio e noradrenalina em artéria tibial caudal. Relaxamento dependente do endotélio induzido por acetilcolina (ACh) (A) e nitroprussiato de sódio (NPS) (B) após pré-contracção com U46619. Contração à noradrenalina (NOR) (C), em artéria tibial caudal provenientes de ratos Wistar pertencentes aos grupos SHAMs sedentários e treinados (SHAMs e SHAMt) e IC sedentários e treinados (ICs e ICt) após 8 semanas de sedentarismo ou treinamento físico em esteira ergométrica. O número de animais utilizados em cada grupo (N) está entre parêntesis. Os dados estão expressos como média \pm EPM. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

5.8 Resposta miogênica

Em artérias tibiais caudais avaliou-se a resposta miogênica e o efeito do TF em animais com IC. Para isso foram realizadas curvas pressão-diâmetro nas condições ativa (Krebs com Ca^{2+}) e passiva (Krebs 0 Ca^{2+} e EGTA).

As curvas pressão-diâmetro, em condição ativa, nas artérias tibiais caudais dos animais SHAMs apresentaram um aumento do diâmetro interno (Di) com o aumento da pressão intraluminal. Porém, a partir da pressão interna de 100 mmHg o diâmetro interno mostrou-se significativamente menor quando comparado às curvas pressão-diâmetro submetidas à condição passiva, o que indica desenvolvimento de resposta miogênica nessas artérias (Figura 11A). Contudo, nas artérias de animais ICs, essa diferença encontrou-se bastante atenuada (Figura 11C), demonstrando prejuízo da resposta miogênica nessas artérias.

O TF antecipou a resposta miogênica nas artérias de animais SHAMt quando comparado aos SHAMs, a qual foi deflagrada à pressão interna de 80 mmHg (Figura 11B), o que indica uma amplificação da resposta miogênica com o TF. Nos animais ICt, observou-se uma redução significativa do diâmetro interno iniciada à pressão de 100 mmHg, quando comparado às curvas pressão-diâmetro nas artérias desses animais sob condição passiva (Figura 11D), sugerindo que o TF foi capaz de restabelecer o controle miogênico nessas artérias.

A constrição miogênica dessas artérias também foi avaliada como o grau de constrição ativa, ou seja, a diminuição do diâmetro luminal, tendo como parâmetro comparativo as artérias em condição passiva, na mesma pressão intraluminal, que variou de 3-140 mmHg, expresso como percentual de constrição miogênica. Assim, como pode ser visto na figura 11E, a constrição miogênica foi bastante reduzida nas artérias tibiais caudais dos animais ICs, quando comparadas às artérias de animais SHAMs, ao passo que a constrição miogênica dos animais ICt foi restaurada a um nível semelhante às artérias dos animais SHAMs. Além disso, o TF mostrou-se capaz de produzir um aumento pronunciado da constrição miogênica nas artérias dos animais SHAMt quando comparadas às dos animais SHAMs.

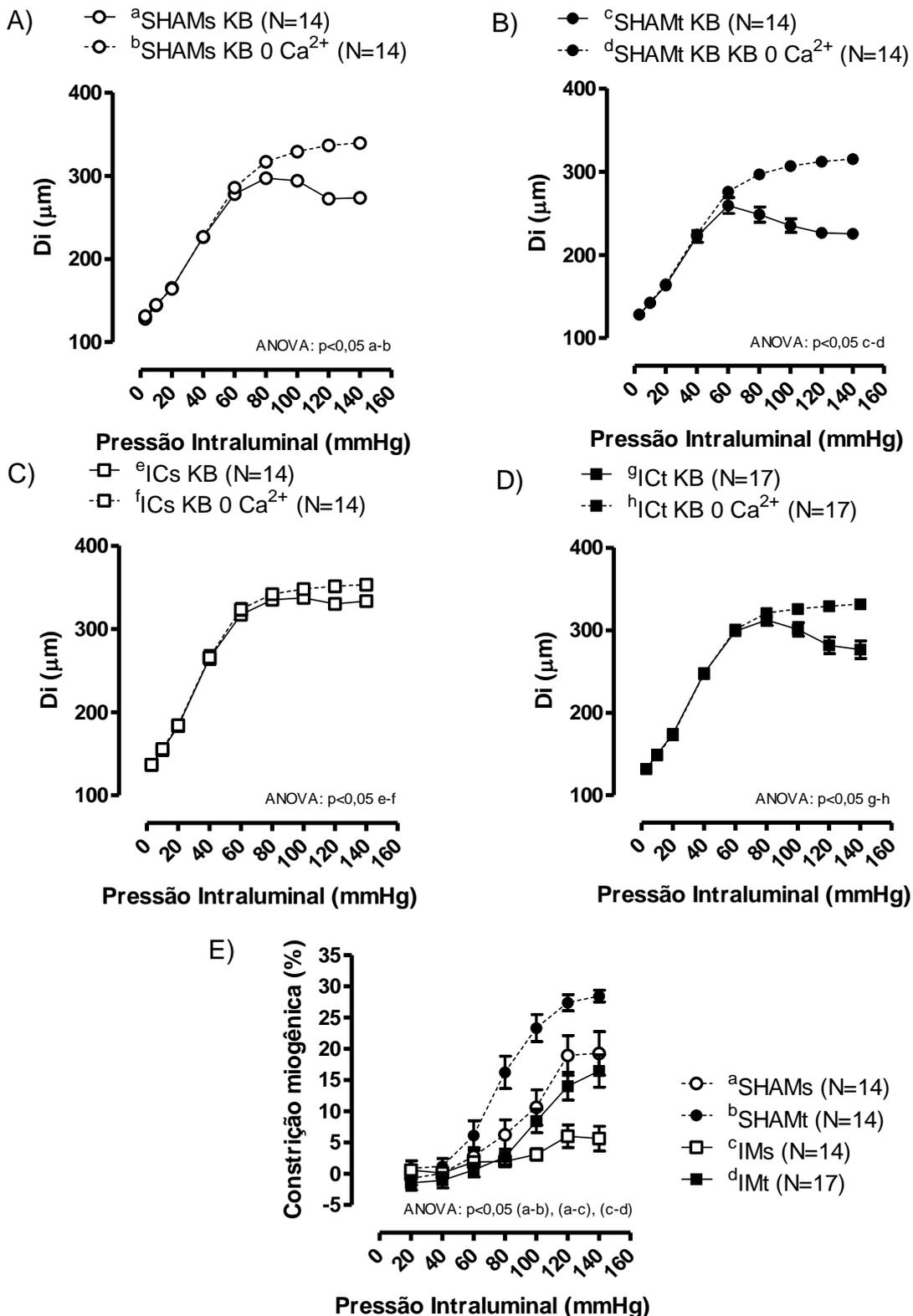


Figura 11 - Curvas pressão-diâmetro e curva de constrição miogênica de artérias tibiais caudais. Curvas pressão-diâmetro realizadas em solução de Krebs-Henseleit (KB) com cálcio (diâmetro ativo) e sem cálcio (0 Ca²⁺, diâmetro passivo) em artérias tibiais caudais de animais SHAMs (A), SHAMt (B), ICs (C) e ICt (D). (E) Construção miogênica de artérias tibiais caudais de ratos SHAM e IC após 8 semanas de sedentarismo (s) ou treinamento físico (t) em esteira ergométrica. O número de animais utilizado (N) em cada um dos protocolos experimentais está indicado entre parêntesis. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

5.9 Cinética do Ca^{2+}

Para avaliar a cinética do Ca^{2+} induzida por NOR (10^{-5} M), artérias tibiais caudais dos grupos experimentais (SHAMs, SHAMt, ICs e ICt) foram mantidas em solução livre de Ca^{2+} contendo EGTA (1 mM). As respostas obtidas referentes à contração fásica induzida pela NOR, na ausência do cálcio no meio extracelular, não foram alteradas com a IC, porém o TF fez com que somente as artérias dos animais ICt apresentassem um maior nível de contração (Figura 12A). Sugerindo que a melhora na resposta miogênica observada com TF em artérias tibiais caudais de animais ICt possa estar pelo menos em parte, associada ao aumento da mobilização do Ca^{2+}_i . Reforçando esse resultado, apesar da razão SERCA-2/PLB não estar significativamente alterada nas artérias tibiais caudais dos ICs quando comparado aos SHAMs, o TF aumentou essa razão nas artérias dos animais treinados SHAM e IC (Figura 12C).

Ao estudar o influxo Ca^{2+} , por meio da adição de CaCl_2 (2,5 mM) as preparações incubadas em solução livre de Ca^{2+} com EGTA e em presença de NOR (10^{-5} M), não foi observada alteração significativa na contração à NOR induzida pelo influxo de cálcio entre os diferentes grupos (Figura 12B).

Para estudar uma das principais vias responsáveis pela mobilização do Ca^{2+}_e , foi avaliada a expressão proteica do $\text{Ca}_v1.2$, o qual apresentou expressão aumentada nas artérias de animais com ICs e ICt quando comparado aos SHAMs (Figura 12D).

Em conjunto esses resultados sugerem que a melhora na resposta miogênica observada com TF em artérias tibiais caudais de animais ICt pode ser, pelo menos em parte, devido a um aumento da mobilização do Ca^{2+}_i . Embora a mobilização do Ca^{2+}_e não tenha mostrado alteração entre os grupos, a expressão proteica dos $\text{Ca}_v1.2$ aumentada com a IC, pode ser um mecanismo compensatório.

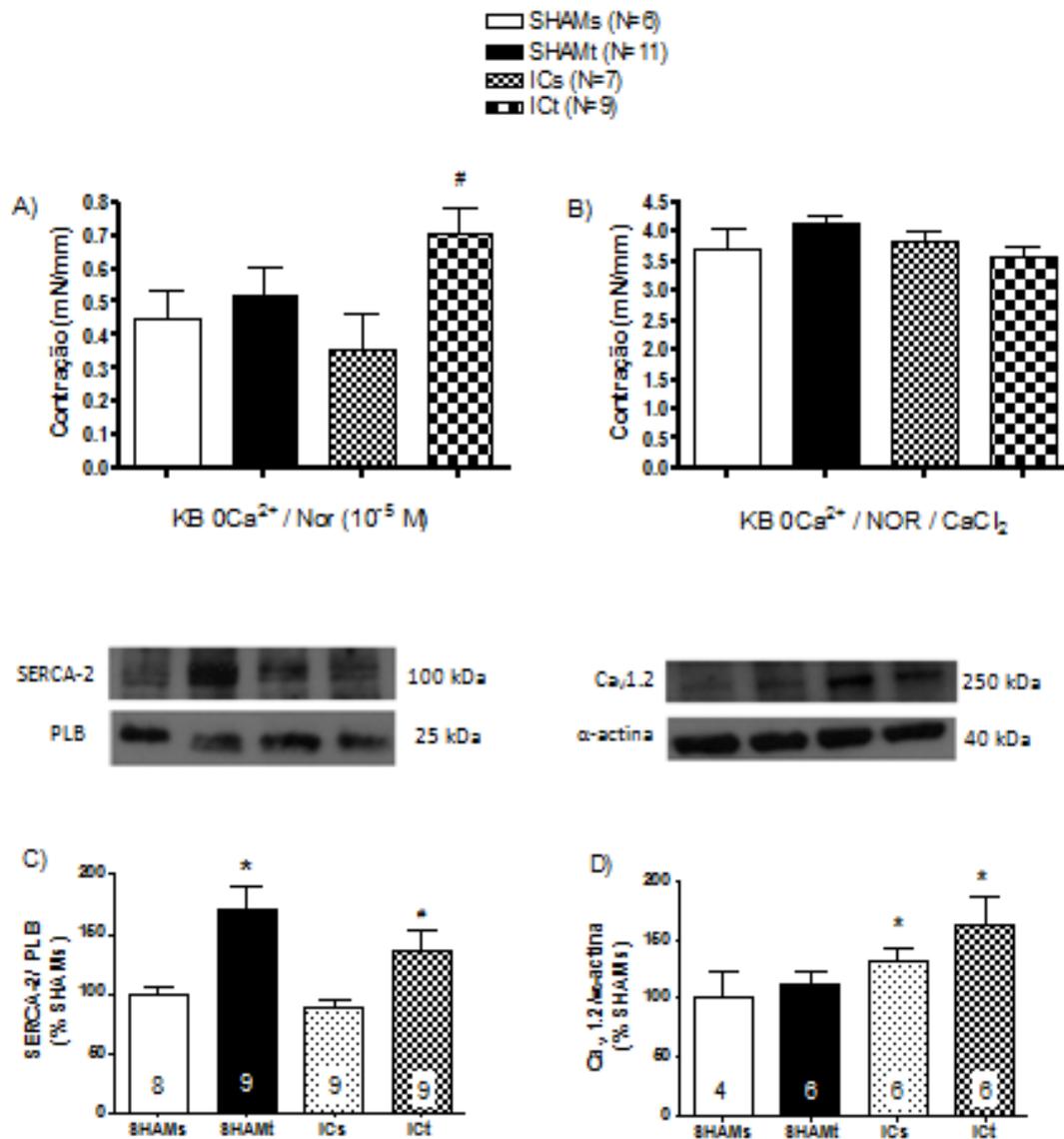


Figura 12 - Cinética do Ca²⁺ em artéria tibial caudal. Resposta induzida por noradrenalina (10⁻⁵ M) em solução livre de Ca²⁺ e com EGTA (A) e após adição de CaCl₂ (2,5 mM) (B) em presença de noradrenalina em artérias tibiais caudais de animais falso operados (SHAM) e insuficiente cardíacos (IC) após 8 semanas de sedentarismo (s) ou treinamento físico (t) em esteira ergométrica. O número de animais utilizado (N) em cada um dos protocolos experimentais está indicado entre parêntesis. Blots típicos e quantificação dos experimentos de Western blot de amostras de artéria tibial caudal representativos da razão entre a cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA-2) e o fosfolambano (PLB) (C) e da razão entre o canal para cálcio dependente de voltagem do tipo-L (Ca_v1.2) e a α-actina (D). O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras, onde para um único valor de “N” corresponde a 5 artérias agrupadas. Os valores correspondem à média ± EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias; *p<0,05 vs. SHAMs, #p<0,05 vs. ICs.

5.10 Papel da ROCK na resposta miogênica

A figura 13 mostra o efeito da inibição da ROCK na resposta miogênica em artérias tibiais caudais de animais SHAM e IC e a ação no TF. Para isso, cada segmento de

artéria foi submetido a três passos sequenciais onde foram realizadas curvas pressão-diâmetro (3-140 mmHg) na condição ativa (KB com Ca^{2+}), na condição ativa em presença do inibidor da ROCK (Y-27632) e condição passiva (KB 0 Ca^{2+}).

Observa-se na Figura 13, que as curvas pressão-diâmetro na condição ativa repetiram os resultados acima descritos (Figura 11A, B, C e D) e o Y-27632 inibiu a resposta miogênica nas artérias tibiais caudais de todos os grupos avaliados. A inibição observada nos segmentos arteriais de animais tanto SHAMs quanto ICs foi semelhante às curvas pressão-diâmetro obtidas em condição passiva (Figura 13A e C), ainda que as artérias de animais ICs apresentassem a resposta miogênica bastante reduzida, ou seja, nos animais sedentários o Y-27632 causou uma inibição completa da reatividade miogênica. Essas respostas sugerem que a ROCK tem uma participação primordial entre as vias de sinalização propostas para a resposta miogênica em artéria tibial caudal.

Nas artérias dos animais submetidos ao TF, o Y-27632 causou uma atenuação do aumento da resposta miogênica observada nos animais SHAMt, e na melhora da mesma em artérias dos animais ICt (Figura 13 B e D). Além disso, a expressão proteica da ROCK II aumentou com a IC e apresentou ainda uma amplificação desse aumento nas artérias tibiais caudais dos animais ICt quando comparado com ICs (Figura 14A), enquanto a expressão proteica da PKC mostrou-se inalterada entre os grupos (Figura 13B), ambas vias de sensibilização ao Ca^{2+} . Em conjunto esses resultados sugerem que os mecanismos envolvidos com melhora observada com o TF tanto no grupo SHAM quanto no grupo IC parecem se beneficiar da via de sinalização ROCK, especialmente o grupo ICt que tem expressão proteica da ROCK II aumentada, porém, a via de sensibilização ao Ca^{2+} parece não ser o único fator a gerar a melhora da resposta miogênica com o TF.

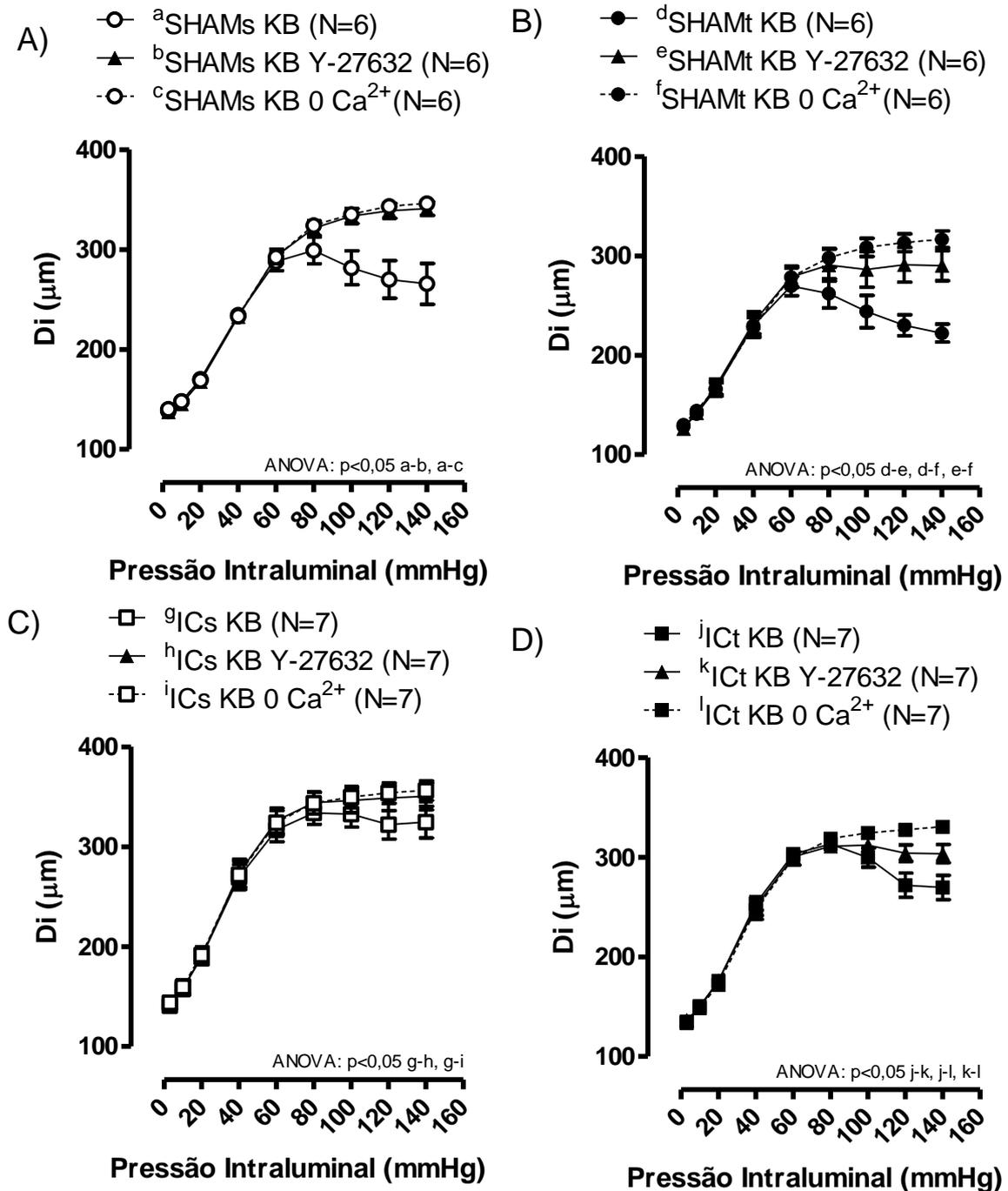


Figura 13 - A sensibilização ao Ca²⁺ e a resposta miogênica em artérias tibiais caudais. Curvas pressão-diâmetro realizadas em solução de Krebs-Henseleit (KB) com cálcio (diâmetro ativo), KB com cálcio na presença do inibidor da ROCK (Y-27632) e sem cálcio (0 Ca²⁺, diâmetro passivo) em artérias tibiais caudais de animais SHAMs (A), SHAMt (B), ICs (C) e ICt (D) após 8 semanas de sedentarismo ou treinamento físico em esteira ergométrica. O número de animais utilizado (N) em cada um dos protocolos experimentais está indicado entre parêntesis. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

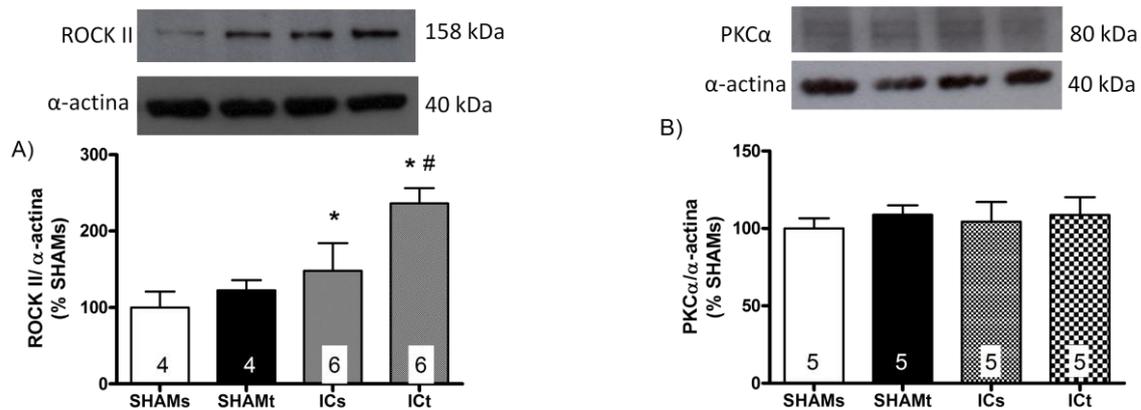


Figura 14 - Expressão proteica de vias de sensibilização ao Ca^{2+} em artérias tibiais caudais. Blots típicos e quantificação dos experimentos de Western blot para amostras de artéria tibial caudal representativas da Rho Kinase (ROCK) (E) e o proteína kinase C (PKC) (F) normalizados pela expressão da α -actina. O número de animais utilizado encontra-se no interior das barras, onde para um único valor de “N” corresponde a 5 artérias agrupadas. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias; * $p < 0,05$ vs. SHAMs.

5.11 Propriedades estruturais

Nas curvas diâmetro-pressão realizadas sob condição de máximo relaxamento, ou seja, em presença de solução de Krebs 0Ca^{2+} e EGTA, o aumento da pressão intraluminal induziu um aumento progressivo tanto para o diâmetro interno (Figura 15A) quanto para o diâmetro externo (resultados não mostrados) das artérias tibiais caudais de todos os quatro grupos avaliados. Observou-se, entretanto, que esse aumento foi de maior magnitude nas artérias de animais ICs quando comparadas com as de animais SHAMs (Figura 15A), o que caracterizaria um remodelamento para fora dessas artérias dos animais ICs. O TF foi capaz de atenuar esse remodelamento, aproximando o Di das artérias de animais ICt as observadas nos animais SHAM (Figuras 15A).

Com o aumento da pressão intraluminal a razão parede/ luz (razão P/L) das artérias tibiais caudais apresentaram-se significativamente reduzidas entre as pressões de 3 a 20 mmHg nos animais ICs quanto comparados com SHAMs, voltando a igualar-se em níveis mais altos de pressão (Figuras 15B). A área de secção transversa (AST) mostrou discreta redução ao longo da curva em todas as artérias avaliadas, mas sem alteração entre os grupos (Figura 15C). Sob esse ponto de vista o tipo de remodelamento em decorrência da IC encontrado nessa artéria poderia ser caracterizado como eutrófico para fora.

O TF não modificou nem a AST nem a razão P/L tanto nos animais SHAM como IC (Figuras 15B e 15C).

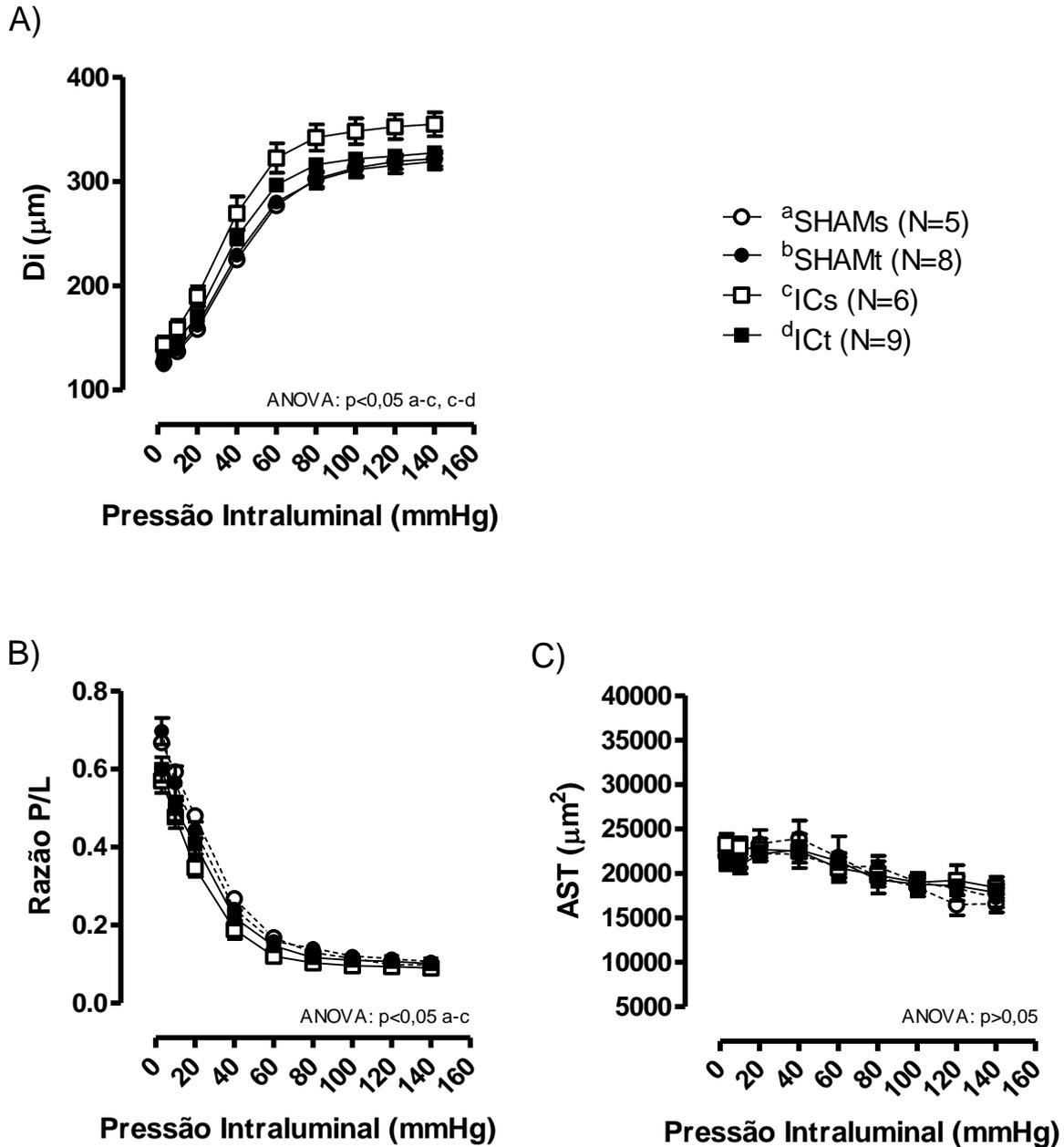


Figura 15 - Propriedades estruturais de artérias tibiais caudais. Variações no diâmetro interno (Di) (A), razão parede/luz (Razão P/L) (B) e área de secção transversa (AST) (C) em decorrência das variações de pressão intraluminal realizadas em solução de KB sem cálcio (diâmetro passivo) em artérias tibiais caudais de animais falso operados (SHAM) e insuficiente cardíacos (IC) após 8 semanas de sedentarismo (s) ou treinamento físico (t) em esteira ergométrica. O número de animais utilizado (N) em cada um dos protocolos experimentais está indicado entre parêntesis. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

5.12 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das artérias tibiais caudais de animais SHAM e IC submetidos aos protocolos de sedentarismo e treinamento por 8 semanas estão representadas na figura 16. Conforme pode ser visto na figura 16A, a distensibilidade das artérias tibiais caudais reduziu com o aumento progressivo da pressão intraluminal e foi semelhante entre os grupos estudados. Não houve alteração significativa na relação *stress-strain* nem nos valores do β entre os grupos (Figura 16B). Assim, pode-se afirmar que nem o IC nem o TF alteraram a rigidez dessas artérias.

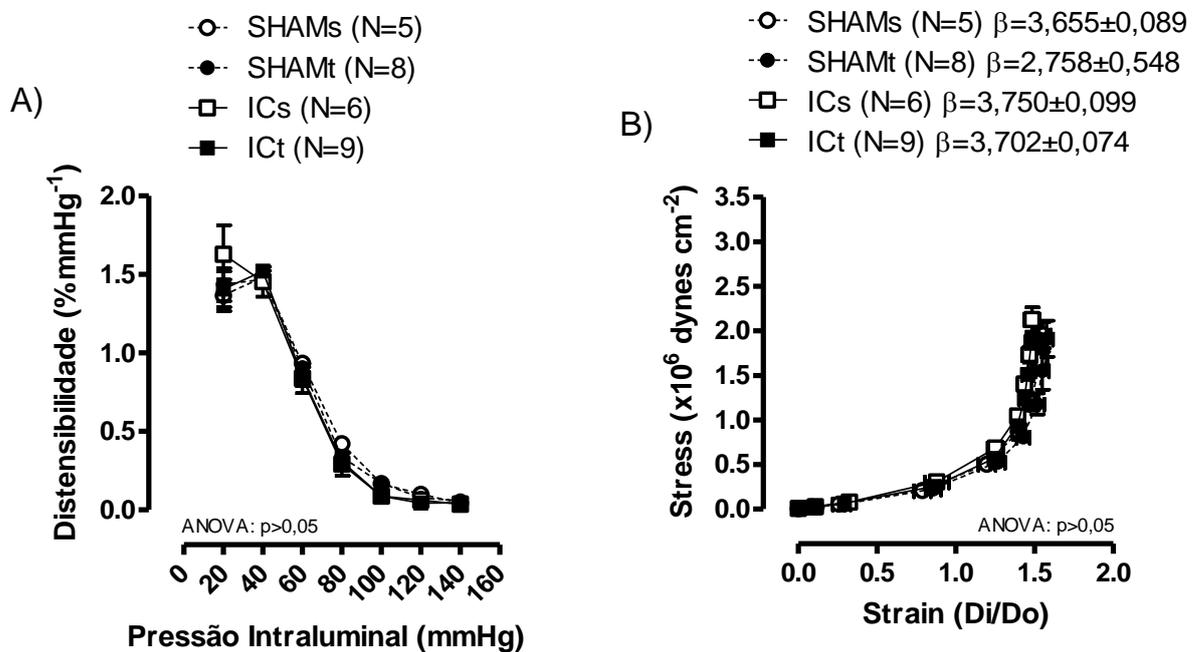


Figura 16 - Propriedades mecânicas de artérias tibiais caudais. Variações da distensibilidade (A) e da relação *stress-strain* (B) avaliadas em solução de KB sem cálcio (diâmetro passivo) em artérias tibiais caudais de animais falso operados (SHAM) e insuficiente cardíacos (IC) após 8 semanas de sedentarismo (s) ou treinamento físico (t) em esteira ergométrica. O número de animais utilizado (N) em cada um dos protocolos experimentais está indicado entre parêntesis. Os valores correspondem à média \pm EPM dos animais estudados. Análise estatística: ANOVA 2-vias.

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo fornecem novas informações sobre a reatividade vascular em relação à vasodilatação dependente do endotélio, à resposta miogênica e à mobilização de Ca^{2+} , e ainda sobre a estrutura e mecânica de artéria de resistência que irriga musculatura esquelética em ratos com IC. Além desses pontos demonstrou-se pela primeira vez em modelo de IC em rato a presença do edema periférico, sinal característico da IC.

Validando a hipótese de que haveria disfunção vascular em consequência da IC, verificou-se que 3 meses pós-IM, ratos apresentavam prejuízo na resposta miogênica em artéria tibial caudal acompanhando de remodelamento eutrófico para fora. Porém, sem alteração na vasodilatação dependente do endotélio. A hipótese de que o TF seria capaz de melhorar esses parâmetros também foi comprovada observando-se uma significativa melhora da resposta miogênica dos animais com ICt comparável à encontrada em animais SHAMs, bem como uma reversão do remodelamento vascular. Além do mais, em conjunto com estes resultados observou-se também uma reversão do edema periférico induzida pelo TF em animais com IC.

6.1 Caracterização do modelo de insuficiência cardíaca

Após 4 semanas de obtenção do modelo de IM, constatou-se redução da FEVE nos animais IM quando comparados com SHAM, resultado que está de acordo com outros estudos (DOS SANTOS et al., 2010; ICHIGE et al., 2016; PFEFFER; BRAUNWALD, 1990).

Sabe-se que no modelo de IM em ratos, pela oclusão da artéria coronária descendente anterior, o tamanho da área de infarto está diretamente relacionado com a redução progressiva da capacidade de geração de pressão do VE (PFEFFER et al., 1979). Assim, alguns estudos têm demonstrado que áreas de infarto que envolvem menos que 20% do ventrículo apresentam mínimas ou nenhuma alteração hemodinâmica. Entretanto, em corações com áreas de infarto cobrindo mais de 30% de superfície ventricular observa-se disfunção ventricular esquerda em decorrência de remodelamento cardíaco (MILL et al., 1990; STEFANON et al., 1994). Dessa maneira considerou-se aptos para o presente estudo animais com FEVE $\leq 35\%$, os quais exibiram correlação com área de infarto maior que 30 %.

Apesar de evidenciada essa correlação, alguns animais com área de infarto igual ou mesmo pouco superior a 30% foram excluídos do estudo por exibirem parâmetros hemodinâmicos normais, como a PDfVE inferior a 10 mmHg. Esses achados estão de acordo

com alguns relatos de autores que afirmam que a hipertrofia do miocárdio residual reduz a dilatação ventricular, gerando uma compensação que pode ser vista na normalização dos parâmetros hemodinâmicos (DOS SANTOS et al., 2010; KUMAR et al., 1970; ORENSTEIN et al., 1995). Isso explicaria a hemodinâmica inalterada encontrada em alguns animais que foram excluídos do estudo. Porém, com a sobrecarga hemodinâmica crônica, mais tardiamente, alguns animais desenvolveriam alargamento ventricular progressivo, o que evoluiria para a descompensação ventricular crescente (KUMAR et al., 1970; ORENSTEIN et al., 1995).

Além da FEVE, também foi utilizado no presente estudo o uso do BNP como um biomarcador de disfunção ventricular e, portanto, de severidade da IC com o objetivo de colaborar na seleção dos grupos a serem estudados. O BNP, assim denominado por ter sido originalmente encontrado no cérebro suíno (SUDOH et al., 1988), é produzido e secretado de forma regulada preferencialmente pelos miócitos ventriculares em resposta à distensão do miocárdio e sobrecarga de volume (COLUCCI; BRAUNWALD, 2005). Ele atua sistemicamente como vasodilatador via AMPc, porém menos potente que o peptídeo natriurético atrial (ANP) (KOMAREK et al., 2004; VAN DER ZANDER et al., 1999). O BNP é ainda um antagonista do SRAA, neutralizando a reduzida excreção de sódio e retenção de volume, além disso, inibe a liberação de renina pelos rins e de aldosterona pelas adrenais (HOLMES et al., 1993).

Na prática clínica os valores de BNP são utilizados no diagnóstico e prognóstico da IC (SILVER et al., 2004; SWEDBERG et al., 2005). Numerosos estudos têm demonstrado o seu valor tanto em estudos realizados em humanos (DAVIS et al., 1994; MAEDER et al., 2010) quanto em animais (CHEN et al., 2015; LUCHNER et al., 1998). Além disso, o BNP tem sido considerado um parâmetro de maior eficácia do que a FEVE e a concentração plasmática do ANP no diagnóstico de IC (DAVIS et al., 1994). No presente estudo verificamos aumentadas concentrações plasmáticas de BNP nos animais com IC, como observado em outros estudos em ratos 12 h, 1 dia e 3 dias após IM (HAMA et al., 1995) e estudos com ratos com IC 8 semanas após IM (KALISZ et al., 2015). Assim, a avaliação da concentração plasmática do BNP também contribuiu na seleção dos animais infartados com prognóstico para IC a prosseguirem no presente estudo.

Outro fator que contribuiu para a seleção dos animais infartados com prognóstico para IC foi o reduzido ganho de peso corporal observado nos presentes animais, e, já descrito por Faria e colaboradores (2011), que reconhecem a perda de peso corporal dos animais IM como um importante marcador para a detecção precoce do desenvolvimento de IC após

infarto em ratos. Os animais ICs apresentaram aumento de massa corporal ao longo das 8 semanas de sedentarismo, porém esse foi de menor magnitude se comparado aos animais SHAM, o que está de acordo com outros trabalhos utilizando ratos 3 dias após IM (SARTÓRIO et al., 2005), 1 semana (TEERLINK et al., 1994) e 4 semanas após IM (COUTO et al. 2015). A perda de peso em pacientes com IC, já documentada por Hipócrates (460-370 a.C.) (KATZ; KATZ, 1962), tem sido denominada como caquexia cardíaca (ALVES et al., 2015; MANCINI et al., 1992) e de acordo com Faria e colaboradores (2011), pode ser utilizada como um marcador para a detecção precoce do desenvolvimento de IC após infarto em ratos.

Existem algumas teorias para essa perda de massa corporal. Poderia ser devido à reduzida procura por alimento observada ao longo de 6 semanas nos animais infartados (FRANCIS et al., 2001), aumento da taxa metabólica basal devido ao aumento do trabalho dos músculos respiratórios (RESNICK; FRIEDMAN, 1935), ou por efeito anoréxico (BRINK et al., 1996) e de indução da perda de tecido muscular pela angiotensina II (BRINK et al., 2001), ou ainda devido ao aumento das concentrações circulantes de fator de necrose tumoral (LEVINE et al., 1990). Também tem sido discutido se os hormônios peptídeo atrial natriurético (ANP) e peptídeo natriurético cerebral (BNP), ambos produzidos de forma regulada pelos cardiomiócitos em resposta à distensão do miocárdio e sobrecarga de volume, desempenham papel na caquexia cardíaca (CANNONE et al., 2014). Além disso, recentes estudos apontam para o envolvimento das vias ubiquitina-proteassoma e autofagia/proteolítica lisossomal no processo de perda de massa muscular na IC (CUNHA et al., 2012; JANNIG et al., 2014).

Apesar dos relatos de perda de massa muscular com a IC, no presente estudo não verificamos perda de massa muscular com a IC nos animais estudados ao avaliar o peso úmido corrigido pela tibia de músculos como sóleo e gastrocnêmio. Alguns estudos utilizando modelo de IC em camundongos por deleção de adrenoceptores α_{2A} e α_{2C} observaram presença de atrofia muscular avaliando a área de secção transversa de músculos plantar e sóleo apenas após os 7 meses de idade, mas não aos 3 meses (BACURAU et al., 2009) e em músculo plantar após os 7 meses de idade, mas não aos 5 meses (CUNHA et al., 2012). Em outros dois estudos utilizando modelo de IC, semelhante ao do presente estudo, demonstraram perda de massa muscular no músculo plantar em ratos com IC 3 meses pós-IM (BECHARA et al., 2014), mas massa muscular do gastrocnêmio inalterada 2 meses pós-IM (FORECHI et al., 2015). O conjunto desses achados sugere que a atrofia muscular seja modelo experimental e tempo dependente e individualizada para cada tipo muscular.

6.2 Desempenho e peso corporal dos animais ao longo do treinamento físico aeróbio

Sabe-se que o TF tem efeitos benéficos não apenas em indivíduos saudáveis, mas também em cardiopatias como o IM e mesmo em presença de IC compensada (MORAES et al., 2005).

Ao início do protocolo de TF os animais dos grupos IC sedentário e treinado apresentaram uma redução do desempenho físico quando comparado com o grupo SHAM sedentário e treinado, evidenciando-se o declínio da capacidade aeróbia com o IM (KEMI et al., 2007; LEOSCO et al., 2008).

Ao final das 8 semanas de TF em esteira ergométrica, o TF de moderada intensidade tanto nos animais SHAM quanto nos IC foi efetivo em aumentar a capacidade física. Foi possível identificar um aumento significativo da distância percorrida avaliada durante os testes de esforço nos animais SHAMt e ICt quando comparado aos animais SHAMs e ICs, respectivamente. Semelhante fato foi observado em outros trabalhos com IC após 8 semanas de TF (KEMI et al., 2007; LEOSCO et al., 2008).

Dados da literatura também demonstraram que o TF ocasionou ainda uma redução significativa do peso corporal dos animais SHAM após 3 semanas de TF em esteira ergométrica (LIBONATI, 2003), como foi observado no presente estudo e em estudo com indivíduos obesos ou levemente obesos, mas sem doença metabólica, após 8 meses de TF de moderada intensidade (SLENTZ et al., 2004). Foi observado ainda que a perda de peso como o TF aeróbio pode ser devida à redução tanto da gordura subcutânea em indivíduos sem sobrepeso e saudáveis (TREMBLAY et al., 1994), quanto redução da gordura visceral abdominal em indivíduos com IC e obesos (SLENTZ et al., 2005). Outros autores relataram que TF de 6 meses a 1 ano é capaz de melhorar os perfis lipídicos quer com perda de peso (WILLIAMS et al., 1989) ou não (KRAUS et al., 2002).

6.3 Dados hemodinâmicos e morfométricos

Com relação aos dados hemodinâmicos constatou-se que, ao final das 8 semanas de protocolo de TF, os valores reduzidos de PSVE encontrados tanto em ICs quanto em ICt quando comparados aos seus respectivos controles, caracterizaram um prejuízo do VE em gerar pressão. Associado a isso, observou-se ainda valores reduzidos de $dp/dt+$ e elevados de $PDfVE$, os quais apontam um prejuízo de contratilidade que pode estar repercutindo em um

inadequado esvaziamento ventricular durante a sístole que, por sua vez, conduz ao aumento do volume de sangue residual ao início da diástole ventricular e possivelmente a um prejuízo da geração de fluxo. Uma redução dP/dt foi também observada nos grupos IC quando comparado com SHAM, sugerindo um prejuízo de relaxamento do VE, o que também contribui para os elevados valores de PDfVE, o qual foi reportado em outros estudos (KEMI et al., 2007; DE WAARD et al., 2010). Tais alterações tomadas em conjunto são sugestivas de disfunção ventricular esquerda presente em animais IC sedentários (BAUERSACHS et al., 2001; COUTO et al., 2015; SARTÓRIO et al., 2007) e que permaneceram inalteradas mesmo após o TF, o que está de acordo com outros trabalhos (KEMI et al., 2007; KEMI et al., 2012). Por outro lado, o TF em esteira ergométrica por 10 semanas foi capaz de reduzir o volume diastólico final do VE em pacientes com IC apresentando FEVE preservada (>45%) (MCGREGOR et al., 2016), assim como foi capaz de reduzir os volumes sistólico e diastólico do VE de pacientes após IM com FEVE reduzida, especialmente quando iniciado precocemente (HAYKOWSKY et al., 2011).

Observou-se ainda, que concordante com a PSVE, os animais dos grupos IC apresentaram redução da PAS quando comparado aos animais dos grupos SHAM, semelhante ao que foi demonstrado em ratos classificados como apresentando IC após 4 semanas de IM (PEREIRA et al. 2005; COUTO et al., 2015). Por outro lado, a elevação da PAD nos animais dos grupos IC do presente trabalho, pode ser indício de aumento da resistência vascular periférica. O TF não alterou esse parâmetro.

Os valores da FC mostraram-se inalterados com a IC, como observado em outros estudos (DELP et al., 1997; DOS SANTOS et al., 2010) e o TF não alterou esse parâmetro nos animais, resultado que está de acordo com outros estudos em humanos com IC (MAIORANA et al., 2011) e em ratos com IC após protocolo de TF de 10 semanas (LEOSCO et al., 2008). Cabe salientar que as mensurações hemodinâmicas foram obtidas com os animais sob efeito anestésico. O anestésico de escolha, uretana, tem sido caracterizado por produzir um nível anestésico com preservação de reflexos cardiovasculares, contanto que haja o cuidado para evitar doses desnecessariamente elevadas e a via de administração adequada (MAGGI; MELI, 1986). Contudo, outro estudo observou que uretana pode bloquear a atividade cardiovascular da angiotensina II, o que representa cerca de 30% do seu efeito pressórico total (VOLICER; LOEW, 1971). Outro estudo afirma ainda que a uretana, pode agir tanto por modesta estimulação de receptores de glicina, GABA e colinérgicos nicotínicos, quanto inibição de receptores glutamatérgicos (AMPA e NMDA), diferente de outros anestésicos que são mais seletivos para um sistema (e.g., ketamina com receptor NMDA e

propofol com receptor GABA), alterando, portanto, diversos sistemas neurotransmissores do sistema nervoso central e requerendo, portanto, maior sutileza no seu uso (HARA; HARRIS, 2002). Nesse sentido, respostas produzidas por manipulações fisiológicas em animal anestesiado com uretana podem não ser tão semelhantes às produzidas no animal acordado, o que favorece a compreensão dos valores de FC encontrados semelhantes em animais SHAM e IC, quando, na verdade, o que se encontra na prática clínica é uma taquicardia induzida pela IC (PATEL; WHITTAKER, 2007; UMANA et al., 2003) e uma bradicardia induzida pelo TF (FRICK et al., 1967; KRIEGER et al., 1998).

Quanto aos dados morfométricos, como já observado em outros trabalhos (COUTO et al., 2015; FLETCHER et al., 1981; PFEFFER et al., 1979), o aumento significativo da razão peso do VD/T acompanhado da elevação da razão peso Pulmão/T, de animais dos grupos IC quando comparados aos grupos dos animais SHAM, sugerem uma congestão pulmonar acompanhada de aumento de sobrecarga do VD, o que, condiz com um quadro de IC. Isso ocorre devido à sobrecarga do VE em decorrência da perda do tecido contrátil, provocando acúmulo de sangue que acontece de forma retrógrada gerando congestão pulmonar e aumento da pós-carga do VD. Assim, o VD sofre hipertrofia a qual ocorre tanto por elevação da pressão sistólica ventricular direita, quanto da pressão diastólica final ventricular direita (PFEFFER et al., 1979). Observou-se ainda que em ambos os grupos IC a razão peso do VE/T aparentemente não apresentou alteração morfométrica, porém sabe-se que a perda tecidual, resultante da cicatriz da região infartada, parece ser compensada pela hipertrofia do miocárdio remanescente, conforme já descrito na literatura (PFEFFER; BRAUNWALD, 1990).

De forma geral, pode-se afirmar que os resultados morfométricos juntamente com os hemodinâmicos levam a inferir que houve remodelamento cardíaco com hipertrofia do miocárdio remanescente, e que os indícios de sobrecarga do VD acompanhada de congestão pulmonar, são sinais claros de IC nos animais com IM, e que o TF não modificou esses parâmetros.

6.4 Reatividade Vascular

6.4.1 Respostas vasodilatadora e vasoconstritora

Sabe-se que a função endotelial é essencial para a manutenção da homeostasia dos vasos sanguíneos mediante a produção de fatores derivados do endotélio como o NO

(PALMER, 1987). No presente estudo verificamos que a resposta vasodilatadora em resposta à ACh em anéis de artéria tibial caudal não exibiu diferença entre os grupos SHAM e IC e que o TF não alterou essa resposta. Esse resultado está de acordo com outros estudos nos quais também não foram relatados prejuízo do relaxamento dependente do endotélio, como em artéria braquial de pacientes com IC quando comparados com indivíduos saudáveis (BANK et al.; 1994), em artéria mesentérica de ratos após 4 meses (BRANDES et al., 1998), ou 10 semanas (BAGGIA et al., 1997), em aorta após 1 mês (TEERLINK et al., 1993), e em artéria femoral de segunda e terceira ordem após 2 meses (TRAUTNER et al., 2006) da cirurgia de indução de IC.

Sabe-se que o relaxamento dependente do endotélio não está uniformemente prejudicado com o IM ou com a IC (BAGGIA et al., 1997, ZELIS; FLAIM, 1981). Alguns autores tem encontrado prejuízo da resposta vasodilatadora dependente do endotélio em anéis de aorta (TEERLINK et al., 1994), coronária (COUTO et al., 2015) e pulmonar (BAGGIA et al., 1997) de ratos com sinais de IC. Todavia em ratos com IM, porém sem sinais de IC, o relaxamento dependente do endotélio em artéria coronária foi maior que o observado em animais controle (COUTO et al., 2015), demonstrando uma modulação do endotélio variando tanto com o estágio da doença quanto com o tipo de vaso estudado (COUTO et al., 2015; FANG; MARWICK, 2002).

Em trabalhos utilizando o monometilarginina (L-NMMA), um inibidor não seletivo da eNOS, em pacientes com IC (KUBO et al., 1994), assim como em ratos com IC após 10 semanas de IM, (DREXLER; LU, 1992), a resposta vasoconstritora ao L-NMMA estava preservada. Esses autores sugerem que a atividade do NO basal estava preservada e, possivelmente, desempenhando um papel compensatório antagonizando forças vasoconstritoras, uma vez que o fluxo sanguíneo do braço em pacientes com IC (KUBO et al., 1994) e de membro pélvico dos animais com IC (DREXLER; LU, 1992) em resposta à ACh encontrava-se prejudicado.

No presente estudo observou-se que o TF não alterou a resposta vasodilatadora dependente do endotélio em artéria tibial caudal dos grupos SHAM e IC. Em estudo com pacientes com IC compensada não edematosa, o exercício do antebraço produziu um progressivo aumento do fluxo sanguíneo desse membro, bem como, resposta de resistência vascular em níveis similares àquela de indivíduos saudáveis, (WILSON et al., 1986a), semelhante ao que foi encontrado ao mensurar o leito vascular femoral em cães com leve edema produzido por IC desencadeada por 3 semanas de implantação de marcapasso (WILSON et al., 1986b). Entretanto, em estudo com pacientes com IC severamente

edematosos, foi encontrado uma redução da queda de resistência vascular, durante exercício de antebraço em resposta à hiperemia reativa, quando comparado aos indivíduos saudáveis (ZELIS et al., 1968), sugerindo que esses pacientes possuem uma anormalidade das arteríolas musculares.

Drexler e colaboradores (1987) sugerem que a redução das cifras de pressão arterial durante o exercício aeróbio agudo, em ratos 21 dias após o IM, pode contribuir para uma subperfusão muscular na IC e que essa subperfusão pode ser devido a uma vasoconstrição regional gerando uma redistribuição do fluxo sanguíneo durante o exercício, hipótese apoiada por Musch e colaboradores (1992) avaliando o fluxo sanguíneo para o membro pélvico em ratos 6 semanas após o IM. Apesar desses achados, os fatores que medeiam esse fenômeno permanecem controversos.

Fisiologicamente essa distribuição varia em função da composição do tipo de fibra (oxidativa, glicolítica ou mista) e do padrão de recrutamento espacial das fibras dentro do músculo (ARMSTRONG; LAUGHLIN, 1983), porém, em face à IC, ocorre uma redução do fluxo para as fibras oxidativas, alterando, portanto, o padrão de distribuição do fluxo sanguíneo muscular. Por outro lado, já tem sido demonstrado que o TF pode melhorar a capacidade oxidativa do músculo esquelético na IC (ADAMOPOULOS et al., 1993), porém sem alterar o fluxo sanguíneo (LEJEMTEL et al., 1986; SULLIVAN et al., 1988).

No presente estudo a artéria tibial caudal, que irriga grupos musculares flexores do membro pélvico de roedores tais como músculos poplíteo, flexor longo do hálux, flexor longo dos artelhos e cabeça lateral do músculo gastrocnêmio (EKEN et al., 2005; LEAL et al., 2016) de características predominantemente glicolítica e mista (ARIANO, et al., 1973), não apresentou alteração na resposta vasodilatadora dependente do endotélio em animais com IC quando comparado com SHAM. De acordo com Drexler e colaboradores (1987), o fluxo sanguíneo está principalmente comprometido, em presença de IC, para porções oxidativas dos músculos esqueléticos, como encontrado aumentado durante o exercício em músculo gastrocnêmio na sua porção com alto percentual de fibras oxidativas, mas inalterado em sua porção mista. Tal fato nos ajudaria a entender a função vascular preservada da artéria tibial caudal mesmo em presença de IC. Musch e colaboradores (1992), no entanto, encontraram em seu estudo que o prejuízo no fluxo sanguíneo não está restrito apenas às porções musculares oxidativas, mas também às porções mistas.

Quanto ao efeito vasodilatador do doador de NO não se observou alteração nas artérias tibiais caudais tanto dos animais IC como após o TF. Resultados similares têm sido encontrados, como em estudo com pacientes com IC, nos quais a administração regional de

nitroglicerina não alterou o fluxo sanguíneo do braço quando comparado a indivíduos controle (SCHWARZ et al., 1994); em estudo utilizando artéria mesentérica de resistência de ratos após 9 semanas de IM (WANG et al., 2010) assim como em artéria coronária septal de ratos 4 semanas pós-IM (COUTO et al., 2015), indicando que a IC parece não afetar o mecanismo de relaxamento do músculo liso vascular ativado pela via da guanilato ciclase solúvel.

Avaliando o efeito do TF na resposta vascular em presença do doador de NO observou-se que a vasodilatação não foi diferente entre os grupos, como já observado previamente em estudo com artéria mesentérica de resistência de ratos com IC submetidos a protocolo de TF em esteira ergométrica por 8 semanas (WANG et al., 2010). Por outro lado, dados não publicados do nosso grupo, utilizando a artéria coronária septal, dos mesmos animais utilizados no presente estudo, demonstram que as coronárias dos ICs apresentam prejuízo na vasodilatação mediada pelo NPS quando comparado aos SHAMs e que o TF reverteu esse efeito. Isso sugere que possivelmente, a artéria tibial caudal apresenta um mecanismo compensatório a fim de manter a perfusão tecidual para os músculos esqueléticos mesmo em presença de IC.

No presente trabalho também avaliou-se a resposta contrátil à NOR, a qual não apresentou alteração quando comparada às artérias dos animais SHAM, o que está de acordo com estudos do nosso grupo de pesquisa utilizando artérias de resistência do músculo esquelético de ratos infartados (COUTO, 2012) e com outros estudos avaliando a resposta contrátil à NOR em artéria femoral de segunda e terceira ordem após 2 meses de IM (TRAUTNER et al., 2006) e pequenas artérias provenientes de biópsias de pele e gordura subcutânea de pacientes com IC (HILLIER et al., 1999). Em estudo com pacientes com IC severamente edematosos, foi também observado que o tônus vasomotor no fluxo sanguíneo de pico de hiperemia reativa após infusão de NOR foi semelhante a indivíduos saudáveis, apesar de esse procedimento aumentar a concentração dessa catecolamina no sangue arterial e aumentar a resistência vascular (ZELIS et al., 1968).

Uma possível explicação para esses achados é a aumentada atividade do NO, como sugerido por Da Cunha e colaboradores (2004). Nesse trabalho os autores também não encontraram alteração nas respostas vasoconstritora e vasodilatadora em aorta de ratos 4 semanas após IM, porém demonstraram que em aorta de animais infartados e tratados com L-NAME, um inibidor não seletivo da eNOS, por 4 semanas, houve um aumento da resposta vasoconstritora bem como uma atenuada vasodilatação quando comparados ao animais infartados controles. De acordo com esses achados, Couto e colaboradores (2015)

encontraram uma reduzida biodisponibilidade de NO em artéria coronária de animais com IC após 4 semanas de IM. Em contrapartida, há uma aumentada biodisponibilidade de NO em coronárias de animais infartados, mas sem sinais de IC. Tais achados sugerem que o NO pode estar agindo como um mecanismo protetor contra uma excessiva descarga simpática presente no IM e IC.

No que diz respeito à resposta contrátil nos grupos estudados, o TF não modificou esse parâmetro, o que está de acordo com o observado por Jasperse e Laughlin (1999), ao avaliar a resposta contrátil à NOR em artérias do músculo sóleo após 10-12 semanas de TF em esteira ergométrica.

6.4.2 Resposta miogênica e mobilização do Ca^{2+}

Em outras abordagens experimentais que visam entender a fisiopatologia da IC, estudos têm observado que alterações hemodinâmicas, como a redução do fluxo sanguíneo encontrada nos músculos esqueléticos tanto em humanos com IC (OLSON et al., 2010) quanto em modelos de IM em ratos (MUSCH; TERRELL, 1992), podem estar associadas a alterações estruturais da parede vascular, bem como a possíveis modificações na sinalização intracelular do músculo liso vascular ou endotélio (POURAGEAUD; DE MEY, 1998), que possam levar a um prejuízo da autorregulação do fluxo sanguíneo local.

A fim de avaliar se esse importante mecanismo de autorregulação do fluxo sanguíneo encontrava-se alterado com a IC, foram realizados experimentos por meio da técnica de artérias pressurizadas em artéria tibial caudal, artéria de terceira ordem proveniente da artéria femoral, na qual foi encontrada marcante propriedade miogênica.

Foi observado pela primeira vez no presente estudo que os animais com IC apresentavam prejuízo da resposta miogênica das artérias tibiais caudais. O prejuízo da resposta miogênica foi observado com o avançar da idade, como avaliado por Kang e colaboradores (2009) em arteríolas dos músculos sóleo e gastrocnêmio de ratos idosos. Por outro lado, a resposta miogênica foi amplificada em estudo com artéria mesentérica de ratos 3 meses após IM (GSCHWEND et al., 2003) e em artéria cerebral posterior de camundongos 4 a 6 semanas após o IM (YANG et al., 2012). Além disso, a resposta anormal da vasculatura periférica, como encontrada com a senescência e no presente estudo, pode contribuir para os sintomas comuns de fadiga e reduzida tolerância ao exercício em pacientes com IC (CEILER et al., 1999; ZELIS et al., 1968). O prejuízo da resposta miogênica pode ser pelo menos uma das razões para esses sintomas, em meio à associação de muitos outros fatores como

alterações hormonais, aumentada atividade nervosa simpática que podem influenciar a relação entre a pressão e o fluxo sanguíneo e contribuir para o surgimento de alterações ao longo da árvore arterial na IC (FAIRFAX et al., 2015).

Estudo avaliando a sensibilidade ao Ca^{2+} via ROCK em artérias de resistência da musculatura esquelética de hamster demonstrou que o NO foi capaz de diminuir a sensibilidade ao Ca^{2+} em células do músculo liso vascular, participando, portanto, como uma via de dessensibilização ao Ca^{2+} e sendo considerado um modulador da atividade da MLCP e, portanto do tônus vascular (BOLZ et al., 2003).

Sabendo-se que em outros estudos utilizando o modelo de IM foi documentado um aumento da expressão da eNOS em diferentes artérias (BAUERSACHS et al., 1999; COUTO et al., 2015). Artérias do grupo IC do presente estudo apresentaram vasodilatação dependente do endotélio preservada, pode-se sugerir que um possível aumento da disponibilidade do NO nessas artérias possa estar atenuando a resposta miogênica dos vasos de animais com IC. Mas para isso seria necessário confirmar a hipótese de que essas artérias teriam dependência da via da ROCK para a manutenção das respostas miogênicas exibidas.

Para estudar alguns dos mecanismos responsáveis pela alteração da resposta miogênica encontrada nas artérias de animais com IC, foi avaliada a participação da via da ROCK. Em artérias tibiais caudais de SHAMs observou-se uma forte inibição da resposta miogênica com o uso do inibidor Y-27632, como observado em artéria de resistência da cauda (SCHUBERT et al., 2002), em artéria cerebral média (JOHNSON et al., 2009) e em artéria cerebral posterior de ratos (GOKINA et al., 2005). Um dado observado pela primeira vez em artérias de animais com IC foi que essas artérias, apesar de exibirem pequena resposta miogênica, ainda assim o Y-27632 causou uma inibição dessa resposta. Essas respostas sugerem que a ROCK tem importante participação entre as vias de sinalização propostas para a resposta miogênica e que sua atuação dá-se tanto em artéria tibial caudal de animais saudáveis quanto em artérias de animais com IC.

Diversos estudos mostram que o desenvolvimento e a manutenção da resposta miogênica deve-se à sensibilização da maquinaria contrátil ao cálcio (VANBAVEL et al., 1998) cujas vias como a PKC e ROCK podem estar envolvidas, como observado em artéria basilar (YEON et al., 2002). No presente estudo, no entanto, não se observou alteração na expressão nem da PKC α nem da ROCK II com a IC. Contudo, apesar da expressão proteica da ROCK II não apresentar alteração com a IC, não se pode excluir seu envolvimento no prejuízo observado na resposta miogênica, uma vez que o uso do inibidor da ROCK

demonstrou o importante papel da sensibilização ao Ca^{2+} via ROCK para o desenvolvimento e manutenção da resposta miogênica.

Para avaliar outros possíveis mecanismos responsáveis pela alteração da resposta miogênica encontrada nas artérias de animais com IC e conhecendo estudos que relatam reduzida expressão de proteínas como a SERCA-2 (BOCALINI et al., 2012; ROLIM et al., 2007) em VE de animais com IC, o presente trabalho avaliou a possibilidade de alteração nas vias de mobilização do Ca^{2+} em artérias tibiais caudais.

Quanto à cinética do Ca^{2+}_i em artérias tibiais caudais não foi observada alteração em resposta à NOR na ausência de Ca^{2+}_e . Ou seja, vias de sinalização como a ativação da PLC, produzindo IP_3 a qual se liga a receptores específicos no retículo sarcoplasmático para liberação de Ca^{2+} , e o diacilglicerol (DAG), ativando a proteína kinase C (PKC) (SOMLYO; SOMLYO, 2003), bem como a recaptação de Ca^{2+} pela SERCA regulada pelo fosfolambano (PLB) (SCHNEIDER et al., 2015), parecem não estar envolvidas com a IC. De maneira semelhante à razão SERCA-2/PLB também se mostrou inalterada em artérias tibiais caudais de animais com a IC.

A dinâmica de Ca^{2+} relacionada ao influxo de Ca^{2+}_e , avaliada adicionando-se CaCl_2 em presença de NOR após depleção dos estoques de Ca^{2+}_i , manteve-se inalterada nas artérias tibiais caudais de animais com IC. Essa resposta está de acordo com estudo utilizando aorta de ratos 3 dias pós-IM (KIM et al., 2014). Possivelmente, mecanismos celulares que respondem ao estímulo mecânico do estiramento da membrana e que estão por trás da resposta miogênica, canais para cátions “não seletivos”, como os canais potencial receptor transiente na sua subfamília vanilóide (TRPV1-6 e TRPV4) (MORITA et al., 2007; WELSH et al., 2002) e o NCX (RAINA et al., 2008), parecem não estar envolvidos com as alterações encontradas na artéria tibial caudal de animais com IC. No entanto, de forma surpreendente, ao avaliar a expressão proteica da $\text{Ca}_v1.2$, a mesma encontrou-se aumentada em artérias de animais com ICs. Provavelmente sua aumentada expressão seja uma forma de compensar e manter a pequena resposta miogênica encontrada nessas artérias.

O presente estudo documenta ainda um novo achado demonstrando que o TF em artérias de animais com IC foi capaz de restaurar a constrição miogênica ao nível das artérias dos animais SHAMs. O estudo verificou também que, em artérias dos animais SHAM o TF foi capaz de amplificar a resposta miogênica.

Estudos avaliando o efeito do TF na resposta miogênica são escassos e o presente estudo é o primeiro a avaliar o seu efeito na IC. Em trabalhos onde se utilizaram o TF em esteira ergométrica de 10-12 semanas em animais saudáveis, observou-se que arteríolas do

músculo sóleo de ratos exibiram resposta miogênica similar aos animais sedentários (JASPERSE; LAUGHLIN, 1999). No entanto, no primeiro ramo intramuscular da arteríola do músculo sóleo, foi observado que o TF aumentou a resposta miogênica tanto em animais jovens quanto em animais idosos (GHOSH et al., 2015), melhora que foi atribuída a uma redução da modulação dos canais para K^+ operados por voltagem.

A fim de tentar compreender os prováveis mecanismos celulares pelos quais o TF poderia estar melhorando a resposta miogênica nas artérias tibiais caudais, o presente estudo avaliou a contribuição de uma das via de sensibilização ao Ca^{2+} , a ROCK. Observou-se que a via da ROCK tem considerável importância entre os mecanismos que compõem a resposta miogênica de artérias tibiais caudais dos animais treinados, visto que houve uma significativa inibição da resposta miogênica encontrada na presença do Y-27632. Contudo, essa inibição foi de menor magnitude nos animais IC se comparada com a inibição observada nas artérias dos animais sedentários, onde a curva com o inibidor coincidiu com a curva em condição $0Ca^{2+}$. Tal fato leva a crer que a ROCK pode estar envolvida com a melhora da resposta miogênica com o TF nas artérias estudadas, porém existem outras vias que também participam desse aumento da resposta miogênica. Os dados de expressão proteica da ROCK II corroboram com essa observação, pelo menos no que diz respeito às artérias de animais ICt, uma vez que a expressão proteica de ROCK encontrou-se aumentada nessas artérias. Por outro lado a expressão proteica da PKC α não se modificou entre os grupos, indicando que essa via de sensibilização ao Ca^{2+} não seja a preferencial.

Estudo avaliando a participação das vias de sensibilização ao Ca^{2+} associado ao TF observou que o Y-27632 não reverteu contração induzida por endotelina-1 de pequenas artérias coronárias de porcos após 14 semanas de TF em esteira ergométrica, porém o Calphostin C (inibidor da PKC), sim (ROBLES et al., 2011). Esses achados no geral indicam que diferentes vias de sensibilização ao Ca^{2+} parecem atuar diversamente conforme o leito vascular. Ainda diante dessa variabilidade, cabe ressaltar a importância do fenômeno da sensibilização ao Ca^{2+} na resposta miogênica estudada por diversos autores (JOHNSON et al., 2009; SCHUBERT et al., 2002; YEON et al., 2002;). Porém, ainda pouco se sabe sobre os mecanismos que culminam na sua ativação, sendo portanto, excelente alvo de futuros estudos.

Nessa perspectiva de que o fenômeno da sensibilização ao Ca^{2+} é capaz de disparar a contração do músculo liso com pouca ou nenhuma elevação de concentração de Ca^{2+}_i (OGUT; BROZOVICH, 2003), alguns estudos têm reforçado essa ideia, sugerindo que o aumento da concentração Ca^{2+}_i não é um requisito obrigatório para o desenvolvimento de um nível estável de resposta miogênica (HILL et al., 2001). E mais, sugere-se que o aumento da

concentração Ca^{2+}_i ocorre de forma muito localizada e é finamente regulado por componentes da matriz extracelular como integrinas, fibronectina e colágeno (SUN et al., 2012).

A fim de tentar compreender outros prováveis mecanismos celulares pelos quais o TF poderia estar melhorando a resposta miogênica nas artérias tibiais caudais, o próximo passo do presente estudo foi avaliar vias de mobilização de intracelular do Ca^{2+} , visto que já foi observado na literatura que a expressão da SERCA-2 em amostras de VE de camundongos, que não expressam os adrenoreceptores α_{2A}/α_{2C} e que apresentam IC induzida por hiperatividade simpática, submetidos à TF por 8 semanas em esteira ergométrica, teve seus níveis restaurados (ROLIM et al., 2007).

Assim, avaliando a cinética do Ca^{2+}_i em artérias tibiais caudais observou-se que animais com ICt, mas não SHAMt, aumentaram a resposta contrátil à NOR na ausência de Ca^{2+}_e , sugerindo um aumento da mobilização de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático nas artérias dos IC pós-TF. Corroborando com esse achado, a razão SERCA-2/PLB também se mostrou aumentada em artérias tibiais caudais de animais ICt.

Sabe-se que o TF apresenta efeitos benéficos na IC, dentre eles a redução da hiperatividade simpática (BACURAU et al, 2009; NEGRÃO; MIDDLEKAUFF, 2008), bem como preserva do tônus parassimpático para o coração (ICHIGE et al., 2016). Nesse sentido um estudo avaliando o efeito da estimulação nervosa vagal por 8 semanas em ratos com IC observou elevação na expressão proteica da SERCA-2 e PLB associada à redução dos níveis plasmáticos de NOR, além de melhorar a função cardíaca (ZHANG et al., 2016). Dessa forma, a melhora observada com o TF no presente estudo pode se dever, pelo menos em parte, às alterações produzidas pela melhora do desbalanço autonômico característico da IC.

O influxo de Ca^{2+}_e , por outro lado, manteve-se inalterado nas artérias tibiais caudais de animais submetidos ao TF. No entanto, a expressão do $Ca_v1.2$ manteve elevada, como observada no animais ICs. No que diz respeito ao $Ca_v1.2$, estudos têm demonstrado que o TF em esteira ergométrica de 12 a 20 semanas em porcos aumentou a densidade de corrente desses em músculo liso de artéria coronária (BOWLES et al., 1998; BOWLES, 2001). A propósito, outro estudo utilizando também a artéria coronária de porcos mostrou que o TF de 16 a 22 semanas foi capaz de aumentar a constrição miogênica, contra as expectativas do próprio autor (MULLER et al., 1993). Nesse sentido, parece que o $Ca_v1.2$ tem importante participação nos benefícios do TF na resposta miogênica.

6.5 Estrutura e mecânica vascular

Sabendo-se que as pequenas artérias assim como as arteríolas sofrem uma complexa interação entre estímulos como pressão, tensão de cisalhamento e estado metabólico do tecido, e que, em longo prazo, os vasos de resistência e arteríolas podem se ajustar estruturalmente a fim de manter dimensões adequadas à regulação do fluxo (PRIES et al., 2001), tornou-se necessário avaliar os ajustes estruturais compensatórios assim como os mecânicos em decorrência da IC na artéria tibial caudal.

Foi observado no presente estudo que, quando comparadas com SHAM, as artérias tibiais caudais dos animais dos grupos IC apresentaram um aumento dos D_i e D_e , o que caracteriza um remodelamento para fora da parede arterial (MULVANY, 1999; VAN VARIK et al., 2012). De fato, como já foi observado por Gaballa e colaboradores (1995) em seu estudo avaliando artéria carótida de ratos 6 semanas pós-IM, ocorre um remodelamento estrutural da parede arterial associado a um aumento da área celular, bem como em outro estudo com a mesma artéria de pacientes com IC com fração de ejeção preservada, observou-se aumento do diâmetro arterial (LIAO et al., 2012). Nesse estudo os autores especulam que a elevação crônica do estresse mecânico provocado pelo aumento do estiramento cíclico da pressão de pulso, pode ser a causa da dilatação do lúmen arterial da carótida, acompanhando o desenvolvimento da IC. Entretanto tal efeito é menos provável na maioria das artérias musculares periféricas, onde a onda de pulso encontra-se amortizada e a regulação do calibre envolve múltiplos estímulos em um cenário mecânico-funcional complexo (VAN DEN AKKER et al., 2010).

Sabe-se que, no entanto, em resposta a prolongadas alterações funcionais, os vasos sanguíneos ajustam a sua conformação (FOLKOW, 1983). Diversos estudos têm demonstrado que a alteração crônica em variáveis como o fluxo sanguíneo e por sua vez a tensão de cisalhamento podem induzir remodelamento estrutural em artérias de resistência do músculo esquelético (DELP et al., 2000) e em primeiro ramo de artéria mesentérica (POURAGEAUD; DE MEY, 1998) de ratos. Contudo, nem todos os dados estão em conformidade no que se refere ao fluxo sanguíneo para músculo esquelético de repouso em IM e IC. Existem relatos de redução do fluxo sanguíneo (MUSCH; TERRELL, 1992; LINDSAY et al., 1996), enquanto em outros o fluxo permaneceu inalterado (DREXLER et al., 1987; DREXLER et al., 1990) ou ainda reduzido em pacientes com IC severa, mas inalterado em IC moderada (SØRENSEN et al., 1999). Possivelmente essas diferenças, especialmente no que se refere ao modelo experimental com ratos infartados, se deem devido

ao efeito do anestésico utilizado, o qual pode apresentar um efeito vasodilatador e, portanto, induzir uma menor resistência periférica (BUSS et al., 1999).

Em elegante estudo utilizando artéria cremastérica de primeira ordem de rato, a qual é bastante longa e praticamente não ramificada, Bakker e colaboradores (2003) encontraram que a mudança no perfil de pressão ao longo do comprimento da artéria produziu aumento no diâmetro associado a um estresse de parede mantido e redução da tensão de cisalhamento na região mais distal do vaso. Ou seja, ainda que a tensão de cisalhamento seja um fator importante na estrutura vascular, esse estudo sugere que o perfil de pressão também possui uma forte influência no ajuste estrutural do diâmetro microvascular (BAKKER et al., 2003).

No que diz respeito à AST as artérias tibiais caudais exibiram uma pequena redução ao longo da curva de pressão, porém não apresentaram alteração com a IC nem com o TF. A razão P/L apresentou uma pequena redução no início da curva, ou seja, em pressões não fisiológicas, mas ao longo da curva de pressão não houve diferença com a IC nem com o TF.

Dados da literatura referentes a análises morfométricas após processamento histológico apontam uma diminuição da espessura da camada média resultando em uma menor razão P/L, porém sem diferença da AST, como observado em artéria mesentérica de resistência de ratos 6 e 9 meses pós-IM (BUSS et al., 1999); aumento do D_i associado à redução da razão P/L, sem alteração da AST em artéria mesentérica e pulmonar, ambas de resistência de ratos 3 meses pós-IM (HEENEMAN et al., 1995). No entanto, Schieffer et al. (1995) analisando artérias de resistência em cortes histológicos de músculo quadríceps de ratos após 1 ano pós-IM, encontrou aumento da espessura da camada média.

Como se pode observar na maioria dos estudos ao comparar com artérias de resistência de animais SHAM, a IC parece não induzir significativa alteração na AST. O que indica um remodelamento que conserva a mesma quantidade de material da parede arterial associado a um lúmen levemente maior, o qual pode ser caracterizado como um remodelamento eutrófico para fora (MULVANY, 1999).

Naturalmente, o grau de remodelamento comparado com aquele observado em ratos hipertensos (BRIONES et al., 2006) pode ser considerado moderado, contudo está de acordo com a importância da correlação existente entre a pressão arterial e o processo de remodelamento avaliada por Mulvany e Korsgaard (1983).

Diversos outros mecanismos também podem estar envolvidos no remodelamento de artérias de resistência do músculo esquelético no IM e IC crônica. A angiotensina II é

bastante conhecida na hipertensão por provocar crescimento da parede arterial, conforme observado em artéria mesentérica de terceira ordem, na qual houve redução do diâmetro luminal associado a aumento da espessura da parede e por sua vez da razão M/L (INTENGAN et al., 1999). Da mesma maneira foi observado em ratos saudáveis, sob infusão de angiotensina II, os quais desenvolveram hipertensão arterial seguida de aumento da AST em artéria mesentérica superior (HEENEMAN et al., 1997).

Tal fato consiste num paradoxo, pois, no IM e na IC, não apenas as concentrações plasmáticas de angiotensina II (SWEDBERG et al., 1990), como também de catecolaminas (DAVIS et al., 1988) e endotelina (STEVENSON; FONAROW, 1992) estão aumentadas, os quais promovem crescimento das células do músculo liso vascular (CHUA et al., 1992; DAEMEN et al., 1991) e síntese dos componentes da matriz extracelular (MARTINEZ-LEMUS et al., 2009). No entanto, a infusão de angiotensina II não alterou a pressão arterial e nem aumentou a AST em artéria mesentérica superior de ratos IM (HEENEMAN et al., 1997), o que estaria de acordo com os dados do presente estudo. Além disso, foi observado que nesses animais submetidos ao IM, a infusão de angiotensina II não apenas elevou a concentração plasmática de angiotensina II, mas também a de ANP (HEENEMAN et al., 1997).

Os hormônios ANP e BNP possuem semelhante ação biológica induzindo vasodilatação, natriurese, supressão do SRAA e potentes propriedades de regulação do crescimento (MCGRATH et al., 2005). No IM agudo e na IC o ANP e o BNP são altamente produzidos e secretados na tentativa de compensar as elevadas pressões de enchimento cardíacas (FRANCIS et al., 2001), tendo por isso implicações no diagnóstico e prognóstico das síndromes coronarianas, além de possíveis aplicações farmacêuticas (CANNONE et al., 2014; MCGRATH et al., 2005).

De fato, o ANP quando infundido em ratos hipertensos não só induziu queda na pressão arterial de animais espontaneamente hipertensos (SHR) (CACHOFEIRO et al., 1989; ELESGARAY et al., 2012) como foi capaz de reduzir a espessura da camada média em aorta torácica e a AST de animais SHR (MOURLON-LE GRAND et al., 1993), demonstrando que pode haver uma ação de inibição do crescimento vascular. Diante disso, pode-se sugerir que as alterações morfológicas encontradas nos animais dos grupos IC no presente estudo podem ser resultado tanto de fatores hemodinâmicos quanto de fatores hormonais exercendo uma ativação contrarreguladora.

No IM o remodelamento cardíaco põe em ação uma série de eventos relacionados à matriz celular e extracelular, particularmente a substituição da matriz extracelular no

miocárdio remanescente, cujo processo é acelerado pela indução e/ou ativação de matriz de metaloproteinases (MMPs), contribuindo para a progressão da IC (SPINALE; VILLARREAL, 2014). Quanto ao remodelamento vascular, Heeneman e colaboradores (1995) não encontraram qualquer alteração nas concentrações de colágeno e elastina em artérias de condutância como aorta torácica, mesentérica superior e renal apesar de ter observado redução nos diâmetros e AST dessas artérias de ratos após 3 meses de IM.

Contudo, não está claro ainda o quanto as MMPs estão envolvidas nas alterações mais sutis do remodelamento vascular no qual não envolve mudança na massa da parede do vaso. Evidências experimentais, no entanto, sugerem fortemente que as MMPs participam no controle agudo e crônico de diâmetro da artéria resistência, as quais são nitidamente mais sensíveis a variações na pressão intraluminal se comparadas a artérias de condutância (DAVIS e HILL, 1999).

Foi proposto um modelo de desenvolvimento de tônus e resposta miogênicas no qual o aumento da pressão intraluminal leva à ativação sequencial de MMPs, e do receptor para fator de crescimento epidermal (EGFR) (LUCCHESI et al., 2004). Tal achado favoreceria uma possível correlação entre a resposta miogênica e o tipo de remodelamento observado no presente estudo no grupo IC quando comparado ao SHAM, uma vez que haveria uma menor ativação de MMPs, uma menor transativação do EGFR e, portanto, reduzindo o efeito de promoção de crescimento celular.

Outro componente da matriz extracelular que afeta tanto as características de conformacionais quanto a habilidades de regulação dos vasos sanguíneos é a fibronectina (AMBESI; MCKEOWN-LONGO, 2014). O teor de fibronectina em vasos sanguíneos é importante não apenas porque modifica a tensão média e módulo de elasticidade da parede (BÉZIE et al., 1998), mas porque evidências sugerem que a fibronectina está intimamente relacionada com a capacidade de células do músculo liso das arteríolas em detectar e reagir às forças mecânicas via receptores integrina (MARTINEZ-LEMUS et al., 2005; SUN et al., 2005; SUN et al., 2008). Dessa forma, alterações na quantidade de fibronectina e/ou integrina na parede vascular podem impactar não apenas na estrutura arterial, mas também na resposta contrátil de vasos sanguíneos frente a mudanças incrementais em pressão intraluminal, ou seja, na resposta miogênica (MARTINEZ-LEMUS et al., 2003). Tal fato leva a crer que as alterações encontradas nas artérias tibiais caudais de animais infartados referentes à resposta miogênica e estrutura podem estar interligadas.

Ao avaliar-se o efeito do TF na estrutura vascular de artérias tibiais caudais, confirmou-se a hipótese inicial do estudo. O TF foi capaz de melhorar o remodelamento para

fora observado nas artérias tibiais caudais dos animais ICt, cujo Di assemelhou-se ao de animais SHAM, porém sem alterar AST nem razão P/L. Tal fato chama a atenção para a plasticidade da parede vascular, a qual em sua composição pode ser vista como uma estrutura continuamente ajustável às alterações mecânicas locais, hemodinâmicas e neuro-humorais (MARTINEZ-LEMUS et al., 2009).

Existem poucos estudos avaliando as alterações estruturais vasculares induzidas pelo TF na IC. Estudo avaliando o remodelamento vascular em pacientes pertencentes às classes de I a III da NYHA, mas sem IC congestiva, afirmou haver aumento do Di sem alteração da razão P/L de artéria braquial após 12 semanas de TF em bicicleta ergométrica (MAIORANA et al., 2011). No entanto a comparação com o modelo utilizado nesse estudo torna-se difícil, uma vez que não se faz o uso nos animais das medicações que normalmente se associam ao tratamento de pacientes com IC.

Contudo um fato que pode ajudar a interpretar melhor o remodelamento observado nas artérias dos animais ICt é a aumentada expressão de ROCK. Sabe-se que a ROCK, além de regular a contração do músculo liso vascular, como temos visto, age também regulando importantes funções como migração, proliferação e apoptose (LOIRAND et al., 2006; KOENIG; JAFFE, 2014). Alguns trabalhos têm mostrado que a ROCK regula a reorganização do citoesqueleto de actina (LI et al., 2003; MIYATA et al., 2008), o qual consiste de uma rede filamentosa que proporciona uma armação (esqueleto) capaz de alterar as propriedades mecânicas das células (VAN NIEUW AMERONGEN; VAN HINSBERGH, 2001). No presente projeto a aumentada expressão de ROCK nos animais ICt, pode vir a ser um dos possíveis fatores a proporcionar a melhora do remodelamento observada com o TF nas artérias dos animais com IC.

O remodelamento da parede dos vasos também está associado a mudanças nas propriedades mecânicas das artérias, as quais podem ser influenciadas tanto por fatores humorais e metabólicos, quanto por forças hemodinâmicas e fatores estruturais (MARTINEZ-LEMUS et al., 2009). No presente estudo não houve alteração da distensibilidade da artéria tibial caudal nos animais do grupo ICs quando comparado ao grupo SHAM. Por outro lado, foi relatada reduzida distensibilidade microvascular em músculo tibial anterior de pacientes portadores de severa cardiomiopatia dilatada idiopática, fato que não foi observado em indivíduos que apresentavam quadro moderado da doença (SØRENSEN et al., 1999).

O TF também não modificou a distensibilidade arterial de animais com IC no presente estudo. Em pacientes com IC com fração de ejeção preservada não se observou alteração na distensibilidade em artéria carótida após 16 semanas de TF quando comparado

com pacientes sedentários (KITZMAN et al., 2013), nem se observou alteração na complacência arterial mesmo após 1 ano de TF quando comparado com indivíduos saudáveis ou com pacientes sedentários (NAOKI et al., 2012). Todavia em pacientes com IC com fração de ejeção reduzida foi relatado aumento da complacência em artéria carótida após 8 semanas de TF (PARNELL et al., 2002). Esses achados sugerem que ajustes vasculares ao TF, em referência a distensibilidade arterial, podem diferir quando à gravidade do quadro, com relação à fração de ejeção preservada ou reduzida, e ainda que alterações mecânicas podem diferir quanto ao calibre do vaso em estudo.

Um fator importante a ser considerado no estudo da mecânica arterial é a rigidez. Sabe-se que a rigidez de um material, também conhecido como o módulo de elasticidade ou módulo de Young, pode ser avaliada pela relação *stress-strain* (DOBRIN, 1978). Em geral, desvios para a esquerda nesse parâmetro descrevem funcionalmente um aumento de rigidez, como se tem observado em trabalhos relacionados com hipertensão arterial (BRIONES et al., 2006; ROQUE et al., 2013).

No presente estudo observou-se ainda que a IC não induziu alteração significativa na curva *stress-strain* quando comparado com o grupo SHAM e nem o TF induziu alteração na rigidez arterial. Em contrapartida, estudos com pacientes com IC tem-se observado um aumento na rigidez na microvasculatura do músculo tibial anterior (SØRENSEN et al., 1999). Entretanto, em pacientes com IC com fração de ejeção preservada não foi observada qualquer alteração na rigidez de artéria carótida e 1 ano de TF não alterou esse parâmetro (NAOKI et al., 2012). Além dos achados contraditórios, múltiplas são as dificuldades de comparação, visto as diferentes técnicas empregadas na avaliação da rigidez arterial. A técnica das artérias pressurizadas permite avaliar a rigidez arterial submetendo o vaso a diferentes níveis de pressão, além de avaliar o mesmo sob condições passivas, tornando possível estudar a rigidez arterial sob o ponto de vista de componentes como o colágeno e a elastina.

5.6 Avaliação do volume da pata

Um sinal comumente encontrado na IC é o edema tanto pulmonar quanto periférico. No presente estudo foi avaliado o edema periférico uma vez que o estudo refere-se a alterações que ocorrem em artéria que irriga o membro pélvico de ratos. Nesse sentido foi observado por meio de hidropletismometria que animais com IC apresentaram aumento do volume da pata, o que mostrou ser um forte indicativo de edema periférico, uma vez que o

dado da perda de massa corporal observada ao longo do período de 3 meses após o IM, reforça essa proposição.

O edema periférico é um sinal característico da IC, o qual já tem sido observado mesmo em pacientes nos estágios mais precoces de IC (KATAOKA, 2013). Em estudo utilizando também o método de deslocamento da água em pacientes com insuficiência venosa crônica, que trabalham constantemente em pé, foi observado um aumento do volume da perna de aproximadamente 80 mL após um dia de trabalho (KRIJNEN et al., 1997). Em contrapartida, Flumignan et al., (2006), utilizando o mesmo modelo de IC do presente estudo, não observou presença de edema em pata de ratos com IC após 48 h da cirurgia de IM. Entretanto, cabe ressaltar que o estudo mencionado limitou-se à análise macroscópica para a avaliação da presença de edema, ao passo que no presente estudo utilizando a hidropletismometria, é possível detectar mínimas alterações de volume.

Muito do que se sabe até hoje sobre a formação do edema e as forças que contribuem para a formação de filtrado capilar está ainda de acordo com o conceito de Starling (STARLING, 1896). No entanto, a importância de cada um desses fatores e o impacto hormonal e do sistema nervoso simpático na IC permanece desconhecido.

Sabe-se, todavia, que a patogênese do edema periférico de origem cardíaca possui uma cadeia de eventos como o aumento do volume sanguíneo circulante, (FRANCIS et al., 1990; COLUCCI; BRAUNWALD, 2005) o aumento da pressão venosa (WARREN; STEAD, 1944) e o prejuízo do retorno linfático (MCMASTER, 1937; WÉGRIA et al., 1967).

Além desses fatores outro possível mecanismo que pode alterar o movimento dos fluidos transcapilares seria o prejuízo da resposta miogênica de pequenos vasos, uma vez que o controle miogênico é responsável por ajustar adequadamente a razão resistência pré / pós capilar a fim de manter constante a pressão capilar (JÄRHULT; MELLANDER, 1974).

Em experimentos realizados por Mellander et al. (1987) analisando a regulação da pressão de capilar e a filtração em músculo esquelético de gatos em presença de resposta miogênica observou a presença de uma autorregulação da taxa de filtração transvascular mantida constante em um intervalo de pressão de 50 a 180 mmHg. Contudo, quando o mesmo experimento foi realizado após infusão de papaverina em dose que causou máxima vasodilatação, causando redução da resposta miogênica, observou-se uma acentuada filtração de fluido entre o mesmo intervalo de pressão, ou seja, a resposta miogênica, especialmente no lado arterial, é um importante determinante para a autorregulação da pressão capilar (MELLANDER et al., 1987).

Dada a importância da resposta miogênica para a autorregulação da pressão capilar e sua proteção contra fluxos transcapilares inconvenientes na presença de variações da pressão, o prejuízo na resposta miogênica observado nas artérias tibiais caudais dos animais com IC pode vir a ser um dos fatores a contribuir para o aumento do volume encontrado na pata dos animais com IC.

De forma a avaliar o efeito do TF no edema periférico, animais com ICt foram submetidos à avaliação do volume da pata pelo método da hidropletismometria e observou-se que o TF foi capaz de reverter esse aumento de volume periférico nos animais ICt.

Sabe-se o TF é capaz de mobilizar uma grande quantidade de fluidos do plasma para o compartimento intersticial de músculos ativos (≈ 1100 mL) (LUNDVALL et al., 1972). Fisiologicamente durante o exercício ocorre um aumento do volume nos músculos ativos que está associado a um movimento líquido transcapilar do plasma para o espaço extravascular devido a uma aumentada pressão hidrostática capilar e a uma aumentada osmolaridade tecidual, causada por pequenas moléculas e íons (lactato, Na^+ , K^+ , etc.). Esse movimento transcapilar induz, então, a um acúmulo de fluido de 15 a 20% do volume em repouso, o qual se torna estável em aproximadamente 15 min, e o tempo necessário para que esse volume desapareça dos músculos será maior quanto maior a carga de trabalho, podendo exceder 1 h em exercícios de alta intensidade (LUNVALL et al., 1970; LUNDVALL et al., 1972).

Uma vez que o aumento da pressão hidrostática capilar é finamente regulado pela resposta miogênica (LUNDVALL et al., 1967) e essa foi restaurada no grupo ICt ao nível do grupo SHAMt, como efeito do TF, a reversão do volume da pata observada nos animais ICt pode dever-se à recuperação da funcionalidade do tônus miogênico da artéria tibial caudal e possivelmente de outras artérias de resistência dos músculos esqueléticos que irrigam os músculos ativos. Além disso, a grande mobilização dos fluidos no compartimento intersticial de músculos ativos, gerada a cada sessão de TF, pode contribuir para restabelecer uma adequada movimentação transcapilar de fluidos da pata durante e após o TF, porém isso merece ser investigado.

Diante de todo esse contexto e de muitos outros componentes envolvidos na formação do edema não se pode deixar de refletir o quanto a estrutura da parede arterial está profundamente imbricada com a intensidade da resposta miogênica observada, a tal ponto que o estresse de parede seja considerado o maior determinante da resposta miogênica (MATCHKOV et al., 2002).

7 CONCLUSÃO

Concordante com a hipótese do presente estudo, o TF aeróbio foi capaz restaurar o prejuízo da constrição miogênica das artérias dos animais IC, amplificar a mesma das artérias dos animais SHAM, sem alterar a vasodilatação dependente do endotélio e a vasodilatação ao nitroprussiato de sódio. Os ajustes na constrição miogênica induzidos pelo TF estão associados a uma melhora na mobilização de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático, além da participação de via de sensibilização ao Ca^{2+} via ROCK. Em associação ao restauro da constrição miogênica, o TF promoveu a reversão do remodelamento para fora nas artérias tibiais caudais, associado a uma redução do volume da pata dos IC. Assim, efeitos benéficos tanto funcionais quanto estruturais observados podem vir a ser uma combinação de fatores a contribuir para a melhora do controle da perfusão muscular esquelética bem como reduzir sintomas característicos da IC como a intolerância ao exercício e sinais como o edema periférico.

REFERÊNCIAS*

- ADAMOPOULOS, S.; COATS, A. J.; BRUNOTTE, et al. Physical training improves skeletal muscle metabolism in patients with chronic heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 21, p. 1101-1106, 1993.
- ALLAHDADI, K. J.; HANNAN, J. L.; ERGUL, A.; TOSTES, R. C.; WEBB, R. C. Internal pudendal artery from type 2 diabetic female rats demonstrate elevated endothelin-1-mediate constriction. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 8, p. 2472-2483, 2011.
- ALMEIDA, F. A.; MUNEYA, M.; MAACK, T. Atrial natriuretic factor increases hematocrit and decreases plasma volume in nephrectomized rats. **Life Sciences**, v. 39, p. 1193-1199, 1986.
- ALVAREZ, A.; PIQUERAS, L.; BELLO, R.; CANET, A.; MORENO, L.; KUBES, P.; SANZ, M. -J. Angiotensin II is involved in nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase inhibition-induced leukocyte-endothelial cell interactions in vivo. **British Journal of Pharmacology**, v. 132, p.677-684, 2001.
- ALVES, C. R.; DA CUNHA, T. F.; DA PAIXÃO, N. A.; BRUM, P. C. Aerobic exercise training as therapy for cardiac and câncer cachexia. **Life Sciences**, v. 125, p. 9-24, 2015.
- AMARAL, S. L.; ZORN, T. M. T.; 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.
- AMBESI, A.; MCKEOWN-LONGO, P. J. Conformational remodeling of the fibronectin matrix selectively regulates VEGF signaling. **Journal of Cell Science**, v. 127, p. 3805-3816, 2014.
- AMIRI, F.; VIRDIS, A.; NEVES, M. F.; IGLARZ, M.; SEIDAH, N. G.; TOUYZ, R. M.; REUDELHUBER, T. L.; SCHIFFRIN, E. L. Endothelium-restricted overexpression of human endothelin-1 causes vascular remodeling and endothelial dysfunction. **Circulation**, v. 110, p. 2233-2240, 2004.
- ANQUENOT, T.; BASSAND, J. P.; BERNARD, Y.; SCHIELE, F. Left ventricular remodeling after myocardial infarction. **Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux**, v. 85, p. 781-787, 1992.
- ANTMAN, E. M.; BRAUNWALD, E. ST-Elevation myocardial infarction: pathology, pathophysiology, and clinical features. In: ZIPES, D.P.; LIBBY, P.; BONOW, R.O.; BRAUNWALD, E. (Eds.). **Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier, 2005. p. 1141-1165.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARIANO, M. A.; EDGERTON, V. R.; ARMSTRONG, R. B. Hindlimb muscle fiber populations of five mammals. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 21, p. 51-55, 1973.

ARMSTRONG, R. B.; LAUGHLIN, M. H. Blood flows and within and among rat muscles as a function of time during high speed treadmill exercise. **The Journal of Physiology**, v. 344, p. 189-208, 1993.

ASSREUY, A. M.; AMORIM, R. M.; BRIZENO, L. A.; DE PAULO PEREIRA, L.; DE SOUSA, A. A.; ARAGÃO, G. F.; PEREIRA, M. G. Edematogenic activity of a sulfated galactan from the red marine algae *Gelidium crinale*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, p. 1194-1198, 2012.

BACURAU, A. V.; JARDIM, M.; FERREIRA, J. C.; BECHARA, L. R.; BUENO, C. R. JR.; ALBA-LOUREIRO, T. C.; NEGRÃO, C. E.; CESARINI, D. E.; CURI, R.; RAMIRES, P. R.; MORISCOT, A. S.; BRUM, P. C. Sympathetic hyperactivity differentially affects skeletal muscle mass in developing heart failure: role of exercise training. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 1631-1640, 2009.

BAGGIA, S.; PERJINS, K.; GREENBERG, B. Endothelium-dependent relaxation is not uniformly impaired in chronic heart failure. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 29, p. 389-396, 1997.

BAKKER, E. N.; KERKHOF, C. J.; SIPKEMA, P. Signal transduction in spontaneous myogenic tone in isolated arterioles from rat skeletal muscle. **Cardiovascular Research**, v. 41, p. 229-236, 1999.

BAKKER, E. N.; VERSLUIS, J. P.; SIPKEMA, P.; VANTEEFFELLEN, J. W.; ROLF, T. M.; SPAAN, J. A.; VANBAVEL, E. Differential structural adaptation to haemodynamics along single rat cremaster arterioles. **The Journal of Physiology**, v. 548, p. 549-555, 2003.

BANK, A. J.; RECTOR, T. S.; TSCHUMPERLIN, L. K.; KRAEMER, M. D.; LETOURNEAU, J. G.; KUBO, S. H. Endothelium-dependent vasodilation of peripheral conduit arteries in patients with heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 1, p. 35-43, 1994.

BANK, A. J.; SHAMMAS, R. A.; MULLEN, K.; CHUANG, P. P. Effects of short-term forearm exercise training on resistance vessel endothelial function in normal subjects and patients with heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 4, p. 193-201, 1998.

BARRETO, A. C.; SANTOS, A. C.; MUNHOZ, R.; RONDON, M. U.; FRANCO, F. G.; TROMBETTA, I. C.; ROVEDA, F.; DE MATOS, L. N.; BRAGA, A. M.; MIDDLEKAUFF, H. R.; NEGRÃO, C. E. Increased muscle sympathetic nerve activity predicts mortality in heart failure patients. **International Journal of Cardiology**, v. 153, p. 302-307, 2009.

BASSENGE, E.; MUNZEL, T. Consideration of conduit and resistance vessels in regulation of blood flow. **The American Journal of Cardiology**, v. 62, p. 40-44, 1988.

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 guanylatecyclase 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 guanylylcyclase expression. **Cardiovascular Research**, v. 51, p. 344-350, 2001.

BAUMBACH, G. L.; HEISTAD, D. D. Adaptive changes in cerebral blood vessels during chronic hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 9, p. 987-991, 1991.

BAUMBACH, G. L.; HEISTAD, D. D. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. **Hypertension**, v.13, p. 968-972, 1989.

BAUMBACH, G. L.; SIGMUND, C. D.; FARACI, F. M. Cerebral arteriolar structure in mice overexpressing human renin and angiotensinogen. **Hypertension**, v. 41, p. 50-55, 2003.

BAYLISS, W. M. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. **The Journal of physiology**, v. 28, p. 220-231, 1902.

BECHARA, L. R.; MOREIRA, J. B.; JANNIG, P. R.; VOLTARELLI, V. A.; DOURADO, P. M.; VASCONCELOS, A. R.; SCAVONE, C.; RAMIRES, P. R.; BRUM, P. C. NADPH oxidase hyperactivity induces plantaris atrophy in heart failure rats. **International Journal of Cardiology**, v. 175, p. 499-507, 2014.

BEN DRISS, A.; DEVAUX, C.; HENRION, D.; DURIEZ, M.; THUILLEZ, C.; LEVY, B. I.; MICHEL J. B. Hemodynamic Stresses Induce Endothelial Dysfunction and Remodeling of Pulmonary Artery in Experimental Compensated Heart Failure. **Circulation**, v. 101, p. 2764-2770, 2000.

BERGES, A.; NASSAUW, L. V.; TIMMERMANS, J. P.; VRINTS, C. Role of nitric oxide during coronary endothelial dysfunction after myocardial infarction. **European Journal of Pharmacology**, v. 516, p. 60-70, 2005.

BÉZIE, Y.; LAMAZIÈRE, J. M.; LAURENT, S.; CHALLANDE, P.; CUNHA, R. S.; JACQUES, B.; LACOLLEY, P. Fibronectin Expression and Aortic Wall Elastic Modulus in Spontaneously Hypertensive Rats. **Arteriosclerosis Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 18, p. 1027-1034, 1998.

BOCALINI, D. S.; SANTOS, L. D.; ANTONIO, E. L.; SANTOS, A. A. D.; DAVEL, A. P.; ROSSONI, L. V.; VASSALO, D. V.; TUCCI, P. J. F. (2012). Myocardial remodeling after large infarcts in rat converts post rest-potential in force decay. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 98, p. 243-251.

BOLOGNESE, L.; CERISANO, G. Early predictors of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 138, p. 79-83, 1999.

BOLZ, S. S.; VOGEL, L.; SOLLINGER, D.; DERWAND, R.; DE WIT, C.; LOIRAND, G.; POHL, U. Nitric Oxide-Induced Decrease in Calcium Sensitivity of Resistance Arteries Is Attributable to Activation of the Myosin Light Chain Phosphatase and Antagonized by the RhoA/Rho Kinase Pathway. **Circulation**, v. 107, p. 3081-3087, 2003.

BOWLES, D. K. Gender influences coronary L-type Ca^{2+} current and adaptation to exercise training in miniature swins. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 2503-2510, 2001.

BOWLES, D. K.; HU, Q.; LAUGHLIN, M. H.; STUREK, M. Exercise training increases L-type calcium current density in coronary smooth muscle. **The American Journal of Physiology**, v. 275, p. 2159-2169, 1998.

BOZI, L. H.; JANNIG, P. R.; ROLIM, N.; VOLTARELLI, V. A.; DOURADO, P. M.; WISLØFF, U.; BRUM, P. C. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 20, p. 2208-2212, 2016.

BRANDES, R. P.; WALLEES, T.; KODDENBERG, G.; GWINNER, W.; MÜGGE, A. Endothelium-dependent vasodilatation in Sprague-Dawley rats with post infarction hypertrophy: lack of endothelial dysfunction in vitro. **Basic Research in Cardiology**, v. 93, p. 463-469, 1998.

BRINK, M.; PRICE, S. R.; CHRAST, J.; BAILEY, J. L.; ANWAR, A.; MITCH, W. E.; DELAFONTAINE, P. Angiotensin II induces skeletal muscle wasting through enhanced protein degradation and downregulates autocrine insulin-like growth factor I. **Endocrinology**, v. 142, p. 1489-1496, 2001.

BRINK, M.; WELLEN, J.; DELAFONTAINE, P. Angiotensin II causes weight loss and decreases circulating insulin-like growth factor I in rats through a pressor-independent mechanism. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 2509-2516, 1996.

BRIONES, A. M.; XAVIER, F. E.; ARRIBAS, S. M.; GONZÁLEZ, M. C.; ROSSONI, L. V.; ALONSO, M. J.; SALAICES, M. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats. **American Journal Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, p. 193-201, 2006.

BRUM, P. C.; BACURAU, A. V.; MEDEIROS, A.; FERREIRA, J. C.; VANZELLI, A. S.; NEGRÃO, C. E. Aerobic exercise training in heart failure: impact on sympathetic hyperactivity and cardiac and skeletal muscle function. **Brazilian Medical Journal of Biological Research**, v. 44, p. 827-835, 2011.

BUDE, R. O.; RUBIN, J. M. Relationship between the resistive index and vascular compliance and resistance. **Radiology**, v. 211, p. 411-417, 1999.

BURNETT, J. C. JR.; KAO, P.; HU, D. C.; HESER, D. W.; HEUBLEIN, D.; GRANGER, J. P.; OPGENORTH, T.; REEDER, G. S. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. **Science**, v. 231, p. 1145-1147, 1986.

BUSS, N. H.; KAHR, O.; MULVANY, J. Effect of short- and long-term heart failure on small artery morphology and endothelial function in rat. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 34, p. 34-40, 1999.

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

CACHOFEIRO, V.; SCHIFFRIN, E. L.; THIBAUT, G.; CANTIN, M.; GENEST, J. Effect of a chronic infusion of atrial natriuretic factor on glomerular and vascular receptors in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 7, p. 335-342, 1989.

CAMPOS, J. C.; QUELICONI, B. B.; DOURADO, P. M. M.; CUNHA, T. F.; ZAMBELLI, V. O.; BECHARA, L. R. G.; KOWALTOWSKI, A. J.; BRUM, P. C.; MOCHLY-ROSEN, D.; FERREIRA, J. C. B. Exercise training restores cardiac protein quality control in heart failure. **Plos One**, v. 7, p. 52764, 2012.

CANNONE, V.; BARLERA, S.; PILEGGI, S.; MASSON, S.; FRANZOSI, M. G.; LATINI, R.; SCARDULLA, C.; CLEMENZA, F.; MAGGIONI, A. P.; NICOLOSI, G. L.; TAVAZZI, L.; BURNETT, J. C. JR.; GISSI-HF INVESTIGATORS. The ANP genetic variant Rs5068 and circulating levels of natriuretic peptides in patients with chronic heart failure. **International Journal of Cardiology**, v. 176, p. 1249-1251, 2014.

CEILER, D. L.; NELISSEN-VRANCKEN, M.; DE MEY, J. G.; SMITS, J. F. Role of basal nitric oxide synthesis in vasoconstrictor hyporeactivity in the perfused rat hind limb after myocardial infarction: effect of captopril. **Cardiovascular Research**, v. 43, p. 779-787, 1999.

CHEN, A.; LI, M.; SONG, L.; ZHANG, Y.; LUO, Z.; ZHANG, W.; CHEN, Y.; HE, B. Effects of the Galanin Receptor Antagonist M40 on Cardiac Function and Remodeling in Rats with Heart Failure. **Cardiovascular therapeutics**, v. 33, p. 288-293, 2015.

CHO, S.; ATWOOD, J. E. Peripheral edema. **The American Journal of Medicine**, v. 113, p. 580-586, 2002.

CHRISTENSEN, A. P.; COREY, D. P. TRP channels in mechanosensation: direct or indirect activation? **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 8, p. 510-521, 2007.

CHUA, B. H. L.; KREBS, C. J.; CHUA, C. C.; DIGLIO, C. A. Endothelin stimulates protein synthesis in smooth muscle cells. **The American Journal of Physiology**, v. 262, p. 412-416, 1992.

COLUCCI, W. S.; BRAUNWALD, E. Pathophysiology of heart failure. In: BRAUNWALD, E.; ZIPES, D. P.; LIBBY, P. **Heart Disease—A Textbook of Cardiovascular Medicine**. 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2005, p. 503-534.

COUTO, G. K. **Estudo da função em artérias de resistência de ratos pós-infarto do miocárdio**. 2012. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Programa de Pós-graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

COUTO, G. K.; BRITTO, L. R. G.; 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.

CUNHA, T. F.; BACURAU, A. V.; MOREIRA, J. B.; PAIXÃO, N. A.; CAMPOS, J. C.; FERREIRA, J. C.; LEAL, M. L.; NEGRÃO, C. E.; MORISCOT, A. S.; WISLØFF, U.; BRUM, P. C. Exercise training prevents oxidative stress and ubiquitin–proteasome system overactivity and reverse skeletal muscle atrophy in heart failure. **Plos One**, 7 (8): e41701. doi:10.1371/journal.pone.0041701, 2012.

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. 372-379, 2004.

DA LUZ, P. L.; SHUBIN, H.; WEIL, M. H.; JACOBSON, E.; STEIN, L. Pulmonary edema related to changes in colloid osmotic and pulmonary artery wedge pressure in patients after acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 51, p. 350-357, 1975.

DAEMEN, M. J.; LOMBARDI, D. M.; BOSMAN, F. T.; SCHWARTZ, S. M. Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. **Circulation Research**, v. 68, p. 450-406, 1991.

DALA LIBERA, D.; RAYARA, B.; VOLTERRANI, M.; GOBBO, V.; DELLA BARBERA, M.; ANGELINI, A.; DANIELI BETTO, D.; GERMINARIO, E.; VESCOVO, G. Beneficial effects of GH/IGF-1 on skeletal muscle atrophy and function in heart failure. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v. 286, p. 138-144, 2004.

DAVEL, A. P.; WENCESLAU, C. F.; AKAMINE, E. H.; XAVIER, F. E.; COUTO, G. K.; OLIVEIRA, H. T.; ROSSONI, L. V. Endothelial dysfunction in cardiovascular and endocrine-metabolic diseases: an update. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, v. 44, p. 920-932, 2011.

DAVIS, D.; BAILY, R.; ZELIS, R. Abnormalities in systemic norepinephrine kinetics in human congestive heart failure. **American Journal of Physiology**, v. 254, p. 760-766, 1988.

DAVIS, M.; ESPINER, E. A.; RICHARDS, G.; BILLINGS, J.; TOWN, I.; NEILL, A.; DRENNAN, C.; RICHARDS, M.; TURNER, J.; Yandle, T. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. **The Lancet**, v. 343, p. 440-444, 1994.

DAVIS, M. J.; HILL, M. A. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. **Physiological Reviews**, v. 79, p. 387-423. 1999.

DE WAARD, M. C.; VAN HAPEREN, R.; SOULLIÉ, T.; TEMPEL, D.; DE CROM, R.; DUNCKER, D. J. Beneficial effects of exercise training after myocardial infarction require full eNOS expression. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, p. 1041-1049, 2010.

DEACON, K.; KNOX, A. J. Endothelin-1 (ET-1) Increases the Expression of Remodeling Genes in Vascular Smooth Muscle through Linked Calcium and cAMP Pathways: role of a

phospholipase A₂(cPLA₂)/cyclooxygenase-2 (COX-2)/prostacyclin receptor-dependent autocrine loop. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, p. 25913–25927, 2010.

DELP, M. D.; COLLERAN, P. N.; WILKERSON, M. K.; McCURDY, M. R.; MULLER-DELP, J. Structural and functional remodeling of skeletal muscle microvasculature is induced by simulated microgravity. **American Journal of Physiology**, v. 278, p. 1866-1873, 2000.

DELP, M. D.; DUAN, C.; MATTSON, J. P.; MUSCH, T. I. Changes in skeletal muscle biochemistry and histology relative to fiber type in rats with heart failure. **Journal of Applied Physiology**, 83, 1291-1299, 1997.

DOBRIN, P. B. Mechanical properties of arteries. **Physiological Reviews**, v. 58, p. 397-460, 1978.

DOS SANTOS, L.; ANTONIO, E. L.; SOUZA, A .F.; TUCCI, P. J. Use of after load hemodynamics stress as a practical method for assessing cardiac performance in rats with heart failure. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 88, p. 724-732, 2010.

DREXLER, H.; HAYOZ, D.; MÜNDEL, T.; HORNIG, B.; JUST, H.; BRUNNER, H. R.; ZELIS, R. Endothelial function in chronic congestive heart failure. **The American Journal of Cardiology**, v. 69, p. 1596-1601, 1992.

DREXLER, H.; FAUDE, F.; HÖING, S.; JUST, H. Blood flow distribution within skeletal muscle during exercise in the presence of chronic heart failure: effect of milrinone. **Circulation**, v. 76, p. 1344-1352, 1987.

DREXLER, H.; HIRTH, C.; STASCH, H. P.; LU, W.; NEUSER, D.; JUST, H. Vasodilatory action of endogenous atrial natriuretic factor in a rat model of chronic heart failure as determined by monoclonal ANF antibody. **Circulation Research**, 66, 1371-1380, 1990.

DREXLER, H.; LU, W. Endothelial dysfunction of hindquarter resistance vessels in experimental heart failure. **The American Journal of Physiology**, v. 262, p. 1640-1645, 1992.

EKEN, E.; BESOLUK, K.; TEKE, B. E. An anatomical study on the conformation of the femoral artery in *Chinchilla lanigera*. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 10, p. 506-508, 2005.

ELESGARAY, R.; CANIFFI, C.; SAVIGNANO, L.; ROMERO, M.; MAC LAUGHLIN, M.; ARRANZ, C.; COSTA, M. A. Renal actions of natriuretic peptide in spontaneously hypertensive rats: the role of nitric oxide as a key mediator. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, v. 302, p. 1385-1394, 2012.

FAIRFAX, S. T.; PADILLA, J.; VIANNA, L. C.; HOLWERDA, S. W.; DAVIS, M. J.; FADEL, P. J. Myogenic responses occur on beat-to-beat basis in the human limb. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 300, p. 554-555, 2011.

FANG, Z. Y.; MARWICK, T. H. Vascular dysfunction and heart failure: epiphenomenon or etiologic agent? **American Heart Journal**, v. 143, p. 383-390, 2002.

FARACI, F. M.; BAUMBACH, G. L.; HEISTAD, D. D. Myogenic mechanisms in the cerebral circulation. **Journal of Hypertension**, v. 7, p. 61-64, 1989.

FARIA, T. D. E., O.; BALDO, M. P.; SIMÕES, M. R.; PEREIRA, R. B.; MILL, J. G.; VASSALLO, D. V.; STEFANON, I. Body weight loss after myocardial infarction in rats as a marker of early heart failure development. **Archives of Medical Research**, v. 42, p. 274-280, 2011.

FEARON, I. M.; FAUX, S. P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 47, p. 372-381, 2009.

FÉLÉTOU, M.; VANHOUTTE, P. M. EDHF: an update. **Clinical Science**, v. 117, p. 139-155, 2009.

FISHBEIN, M. C.; MACLEAN, D.; MAROKO, P. R. Experimental myocardial infarction in the rat. **The American Journal of Pathology**, v. 90, p. 57-70, 1978.

FISHMAN, A. P. **Insuficiência Cardíaca**. In: CECIL, R. L. Tratado de Medicina Interna. 16. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. p. 136-158.

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. 1-12, 2010.

FLETCHER, P. J.; PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; BRAUNWALD, E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. **Circulation Research**, v. 49, p. 618-626, 1981.

FLUMIGNAN, R. L. G.; KANASHIRO, R. M.; SARAIVA, R. M.; PORTES, L. A.; ANTONIO, E. L.; ISHIGAI, M. M. D. S.; TUCCI, P. J. F. Incidence of heart failure in infarcted rats that die spontaneously. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 1323-1328, 2006.

FOLKOW, B. 'Structural autoregulation' – the local adaptation of vascular beds to chronic changes in pressure. In Development of the vascular system. **Ciba Foundation symposium**, v. 100, p. 56-79, 1983.

FONSECA, C.; MORAIS, H.; MOTA, T.; MATIAS, F.; COSTA, C.; GOUVEIA-OLIVEIRA, A.; CEIA, F.; EPICA Investigators. The diagnosis of heart failure in primary care: value of symptoms and signs. **European Journal of Heart Failure**, v. 6, p. 795-800, 2004.

FORECHI, L.; BALDO, M. P.; DE ARAUJO, I. B.; NOGUEIRA, B. V.; MILL, J. G. Effects of high and low salt intake on left ventricular remodeling after myocardial infarction in normotensive rats. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 9, p. 77-85, 2015.

FRANCIS, G. S.; BENEDICT, C.; JOHNSTONE, D. E.; KIRLIN, P. C.; NICKLAS, J.; LIANG, C. S.; KUBO, S. H.; RUDIN-TORETSKY, E.; YUSUF, S. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without

congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). **Circulation**, v. 82, p. 1724-1729, 1990.

FRANCIS, J.; WEISS, R. M.; WEI, S. G.; JOHNSON, A. K.; FELDER, R. B. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. **American Journal of Physiology**, v. 281, p. 1734-1745, 2001.

FRICK, M. H.; ELOVAINIO, R. O.; SOMER, T. The mechanism of bradycardia evoked by physical training. **Cardiologia**, v. 51, p. 46-54, 1967.

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. 373-376, 1980.

GABALLA, M. A.; ECKHART, A.; KOCH, W. J.; GOLDMAN, S. Vascular β -adrenergic receptor system is dysfunctional after myocardial infarction. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 280, p. 1129-1135, 2001.

GABALLA, M. A.; GOLDMAN, S. Ventricular remodeling in heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 8, p. 476-485, 2002.

GABALLA, M. A.; RAYA, T. E.; GOLDMAN, S. Large artery remodeling after myocardial infarction. **The American Journal of Physiology**, v. 268, p. 2092-2103, 1995.

GARCIA, S. R.; IZZARD, A. S.; HEAGERTY, A. M.; BUND, S. J. Myogenic tone in coronary arteries from spontaneously hypertensive rats. **Journal of Vascular Research**, v. 34, p. 109-116, 1997.

GARCIA-DORADO, D.; THEROUX, P.; ELIZAGA, J.; GALINANES, M.; SOLARES, J.; RIESGO, M.; GOMEZ, M. J.; GARCIA-DORADO, A.; FERNANDEZ AVILES, F. Myocardial reperfusion in the pig heart model: infarct size and duration of coronary occlusion. **Cardiovascular Research**, v. 21, p. 537-544, 1987.

GHOSH, P.; MORA SOLIS, F. R.; DOMINGUEZ, J. M. 2ND; SPIER, S. A.; DONATO, A. J.; DELP, M. D.; MULLER-DELP, J. M. Exercise training reverses aging-induced impairment of myogenic constriction in skeletal muscle arterioles. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, p. 904-911, 2015.

GIALLAURIA, F.; ACAMPA, W.; RICCI, F.; VITELLI, A.; TORELLA, G.; LUCCI, R.; DEL PRETE, G.; ZAMPELLA, E.; ASSANTE, R.; RENGO, G.; LEOSCO, D.; CUOCOLO, A.; VIGORITO, C. Exercise training early after acute myocardial infarction reduces stress-induced hypoperfusion and improves left ventricular function. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v.40, p. 315-324, 2013.

GIVERTZ, M. M.; COLUCCI, W. S.; BRAUNWALD, E. Clinical Aspects of Heart Failure; Pulmonary Edema, High-Output Failure. In: ZIPES, D. P.; LIBBY, P.; BONOW, R.O.; BRAUNWALD, E. (Eds.). **Braunwald's Heart Disease**. 7 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. p. 539-568.

GLASSER, S. P.; ARNETT, D. K.; MCVEIGH, G. E.; FINKELSTEIN, S. M.; BANK, A. J.; MORGAN, D. J.; COHN, J. N. Vascular compliance and cardiovascular disease: a risk factor or a marker? **American Journal of Hypertension**, v. 10, p. 1175-1189, 1997.

GOHLA, A.; SCHULTZ, G.; OFFERMANN, S. Role for G_{12}/G_{13} in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. **Circulation Research**, v. 87, p. 221-227, 2000.

GOKINA, N. I.; PARK, K. M.; MCELROY-YAGGY, K.; OSOL, G. Effects of Rho kinase inhibition on cerebral artery myogenic tone and reactivity. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, p. 1940-1948, 2005.

GOTO, K.; SAITO, S. Y.; ISHIKAWA, T. Enhanced vasoconstriction to α 1-adrenoceptor stimulation during cooling in mouse cutaneous plantar arteries. **European Journal of Pharmacology**, v. 742, p. 1-7, 2014.

GRANGER, H. J.; GOODMAN, A. H.; GRANGER, D. N. Role of resistance and exchange vessels in local microvascular control of skeletal muscle oxygenation in the dog. **Circulation Research**, v. 38, p. 379-85, 1976.

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. 1317-1325, 2003.

HAMA, N.; ITOH, H.; SHIRAKAMI, G.; NAKAGAWA, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 92, p. 1558-1564, 1995.

HAMBRECHT, R.; ADAMS, V.; ERBS, S.; LINKE, A.; KRÄNKEL, N.; SHU, Y.; BAITHER, Y.; GIELEN, S.; THIELE, H.; GUMMERT, J. F.; MOHR, F. W.; SCHULER, G. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. **Circulation**, v. 107, p. 3152-3158, 2003.

HAMBRECHT, R.; NIEBAUER, J.; FIEHN, E.; KÄLBERER, B.; OFFNER, B.; HAUER, K.; RIEDE, U.; SCHLIERF, G.; KÜBLER, W.; SCHLER, G. Physical training in patients with stable chronic heart failure: effects on cardiorespiratory fitness and ultrastructural abnormalities of leg muscles. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 25, p. 1239-1249, 1995.

HARA, K.; HARRIS, R. A. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. **Anesthesia & Analgesia**, v. 94, p. 313-318, 2002.

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. 4, p. 12-92, 2011.

HEENEMAN, S.; LEENDERS, P. J.; AARTS, P. J.; SMITS, J. F.; ARENDS, J. W.; DAEMEN, M. J. Peripheral vascular alterations during experimental heart failure in the rat. Do they exist? **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 15, p. 1503-1511, 1995.

HEENEMAN, S.; SMITH, J. S.; LEENDERS, P. J.; SCHIFFERS, P. M.; DAEMEN, M. J. Effects of angiotensin II on cardiac function and peripheral vascular structure during compensated heart failure in the rat. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.17, p. 1985-1994, 1997.

HENSCHKE, N.; BOLAND, R. A.; ADAMS, R. D. Responsiveness of two methods for measuring foot and ankle volume. **Foot & Ankle International**, v. 27, p. 826-832, 2006.

HILL, M. A.; ZOU, H.; POTOCHNIK, S. J.; MEININGER, G. A.; DAVIS, M. J. Signal Transduction in Smooth Muscle: Invited Review: Arteriolar smooth muscle mechanotransduction: Ca²⁺ signaling pathways underlying myogenic reactivity. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 973-983, 2001.

HILLIER, C.; COWBURN, P. J.; MORTON, J. J.; DARGIE, H. J.; CLELAND J. G. F.; MCMURRAY, J. J. V.; MCGRATH, J. C. Structural and functional assessment of small arteries in patients with chronic heart failure. **Clinical Science**, v. 97, p. 671-679, 1999.

HIROOKA, Y., IAMAIZUMI, T.; TAGAWA, T.; SHIRAMOTO, M.; ENDO, T.; ANDO, S.; TAKESHITA, A. Effects of L-arginine on impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilation of the forearm in patients with heart failure. **Circulation**, v.90, p. 658-668, 1994.

HOLMES, S. J.; ESPINER, E. A.; RICHARDS, A. M.; YANDLE, T. G.; FRAMPTON, C. Renal, endocrine, and hemodynamic effects of human brain natriuretic peptide in normal man. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 76, p. 91-96, 1993.

HUXLEY, V. H.; TUCKER, V. L.; VERBURG, K. M.; FREEMAN, R. H. Increased capillary hydraulic conductivity induced by atrial natriuretic peptide. **Circulation Research**, v. 60, p. 304-307, 1987.

ICHIGE, M. H.; SANTOS, C. R.; JORDÃO, C. P.; CERONI, A.; NEGRÃO, C. E.; MICHELINI, L. C. Exercise training preserves vagal preganglionic neurones and restores parasympathetic tone in heart failure. **The Journal of Physiology**, v. 594, p. 6241-6254, 2016.

INTENGAN, H. D.; THIBAUT, G.; LI, J. S.; SCHIFFRIN, E. L. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats. Effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition. **Circulation**, v. 100, p. 2267-2275, 1999.

IZZARD, A. S.; BUND, S. J.; HEAGERTY, A. M. Myogenic tone in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Physiology**, v. 270, p. 1-6, 1996.

JANNIG, P. R.; MOREIRA, J. B. N.; BECHARA, L. R. G.; BOZI, L. H. M.; BACURAU, A. V.; MONTEIRO, A. W. A.; DOURADO, P. M.; WISLØFF, U.; BRUM, P. C. Autophagy

Signaling in Skeletal Muscle of Infarcted Rats. **Plos One**, 9(1): e85820. doi:10.1371/journal.pone.0085820, 2014.

JÄRHULT, J.; MELLANDER, S. Autoregulation of capillary hydrostatic pressure in skeletal muscle during regional arterial hypo-and hypertension. **Acta Physiologica**, v. 91, p. 32-41, 1974.

JASPERSE, J. L.; LAUGHLIN, M. H. Vasomotor responses of soleus feed arteries from sedentary and exercise-trained rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, p. 441-449, 1999.

JOHNSON, P. C. Autoregulation of blood flow. **Circulation Research**, v. 59, p. 483-495, 1986.

JOHNSON, R. P.; EL-YAZBI, A. F.; TAKEYA, K.; WALSH, E. J.; WALSH, M. P.; COLE, W. C. Ca^{2+} sensitization via phosphorylation of myosin phosphatase targetin subunit at treonine-855 by Rho kinase contributes to the arterial myogenic response. **The Journal of Physiology**, v. 587, p. 2537-2553, 2009.

JONES, A.; WOODS, D. R. Skeletal muscle RAS and exercise performance. **The International Journal de Biochemistry & Cell Biology**, v. 35, p. 855-866, 2003.

JONES, R. D.; BERNE, R. M. Intrinsic regulation of skeletal muscle blood flow. **Circulation Research**, v. 14, p. 126-138, 1964.

JORDÃO, M. T.; LADD, F. V.; COPPI, A. A.; CHOPARD, R. P.; MICHELINI, L. C. Exercise training restores hypertension-induced changes in the elastic tissue of the thoracic aorta. **Journal of Vascular Research**, v. 48, p. 513-524, 2011.

KAISER, L.; SPICKARD, R. C.; OLIVIER, N. B. Heart failure depresses endothelium dependent responses in canine femoral artery. **The American Journal Physiology**, v. 256, p. 962-967, 1989.

KALISZ, M.; BARANOWSKA, B.; WOLIŃSKA-WITORT, E.; MAĆZEWSKI, M.; MACKIEWICZ, U.; TUŁACZ, D.; GORA, M.; MARTYNSKA, L.; BIK, W. Total and high molecular weight adiponectin levels in the rat model of post-myocardial infarction heart failure. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 66, p. 673-680, 2015.

KANG, L. S.; KIM, S.; DOMINGUEZ, J. M.2nd; SINDLER, A. L.; DICK, G. M. MULLER-DELP, J. M. Aging and muscle fiber type alter K^+ channel contributions to the myogenic response in skeletal muscle arterioles. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, p. 389-398, 2009.

KARIBE, A.; WATANABE, J.; HORIGUCHI, S.; TAKEUCHI, M.; SUZUKI, S.; FUNAKOSHI, M.; KATOH, H.; KEITOKU, M.; SATOH, S.; SHIRATO, K. Role of cytosolic Ca^{2+} and protein kinase C in developing myogenic contraction in isolated rat small arteries. **American Journal of Physiology**, v. 272, p. 1165-1172, 1997.

KATAOKA, H. Clinical Characteristics of Lower-Extremity Edema in Stage A Cardiovascular Disease Status Defined by the ACC/AHA 2001 Chronic Heart Failure Guidelines. **Clinical Cardiology**, v. 36, p. 555-559, 2013.

KATZ, A. M.; KATZ, P. B. Diseases of the heart in the works of *Hippocrates*. **British Heart Journal**, v. 24, p. 257-264, 1962.

KATZ, S. D.; BIASUCCI, L.; SABBA, C.; STROM, J. A.; JONDEAU, G.; GALVÃO, M.; SOLOMON, S.; NIKOLIC, S. D.; FORMAN, R.; LEJEMTEL, H. Impaired endothelium-mediated vasodilatation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 19, p. 918-925, 1992.

KEIDAR, S.; KAPLAN, M.; PAVLOTZKY, E.; COLEMAN, R.; HAYEK, T.; HAMOUD, S.; AVIRAM, M. Aldosterone administration to mice stimulates macrophage NADPH oxidase and increases atherosclerosis development. **Circulation**, v. 109, p. 2213-2220, 2004.

KEMI, O. J.; HARAM, P. M.; HOYDAL, M. A.; WISLOFF, U.; ELLINGSEN, O. Exercise training and losartan improve endothelial function in heart failure rats by different mechanisms. **Scandinavian Cardiovascular Journal**, v. 47, p. 160-167, 2013.

KEMI, O. J.; HOYDAL, M. A.; HARAM, P. M.; GARNIER, A.; FORTIN, D.; VENTURA-CLAPIER, R.; ELLINGSEN, O. Exercise training restores aerobic capacity and energy transfer systems in heart failure treated with losartan. **Cardiovascular Research**, v. 76, p. 91-99, 2007.

KERN, M. J.; Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: ZIPES, D.P.; LIBBY, P.; BONOW, R.O.; BRAUNWALD, E. **Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier, 2005. p. 1141-1165.

KIM, J. -E., CHOI, B. -K., CHOI, J. -Y., RYU, T., ROH, W. S., SONG, S. -Y. Role of calcium channels responsible for phenylephrine-induced contraction in rat aorta 3 days after acute myocardial infarction. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 66, p.143-152, 2014.

KIOWSKI, W.; SÜTSCH, G.; SCHALCHER, C.; BRUNNER, H. P.; OECHSLIN, E. Endothelial control of vascular tone in chronic heart failure. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 32, p. 67-73, 1998.

KITAZAWA, T.; GAYLINN, B. D.; DENNEY, G. H.; SOMLYO, A. P. G-protein-mediated Ca^{2+} sensitization of smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, p. 1708-1715, 1991.

KITZMAN, D. W.; BRUBAKER, P. H.; HERRINGTON, D. M.; MORGAN, T. M.; STEWART, K. P.; HUNDLEY, W. G.; ABDELHAMED, A.; HAYKOWSKY, M. J. Effect of Endurance Exercise Training on Endothelial function and Arterial Stiffness in Older Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: A Randomized, Controlled, Single-Blind Trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, p. 584-592, 2013.

KLOCKE, R.; TIAN, W.; KUHLMANN, M. T.; NIKOL, S. Surgical animal models of heart failure related to coronary heart disease. **Cardiovascular Research**, v. 74, p. 29-38, 2007.

KOENIG, B. K.; JAFFE, I. Z. Direct Role for Smooth Muscle Cell Mineralocorticoid Receptors in Vascular Remodeling: Novel Mechanisms and Clinical Implications. **Current Hypertension Reports**, v.16, p. 427, 2014.

KOMAREK, M.; BERNHEIM, A.; SCHINDLER, R.; STEDEN, R.; KIOWSKI, W.; ROCCA, H. P. B. L. Vascular effects of natriuretic peptides in healthy men. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 9, p. 263-270, 2004.

KRAUS, W. E.; HOUMARD, J. A.; DUSCHA, B. D.; KNETZGER, K. J.; WHARTON M.B.; MCCARTNEY, J. S.; BALES, C. W.; HENES, S.; SAMSA, G. P.; OTVOS, J. D.; KULKARNI, K. R.; SLENTZ, C. A. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. **New England Journal of Medicine**, v. 347, p. 1483-92, 2002.

KRIEGER, E. M.; BRUM, P. C.; NEGRÃO, C. E. Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. **Biological Research**, v. 31, p. 273-279, 1998.

KRIJNEN, R. M.; DE BOER, E. M.; ADÈR, H. J.; BRUYNZEEL, D. P. Venous insufficiency in male workers with a standing profession. Part 2: diurnal volume changes of the lower legs. **Dermatology**, v. 194, p. 121-126, 1997.

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.

KUBO, S. H.; RECTOR, T. S.; BANK, A. J.; RAIJ, L.; KRAMER, M. D.; TADROS, P.; BEARDSLEE, M.; GARR, M. D. Lack of contribution of nitric oxide to basal vasomotor tone in heart failure. **American Journal of Cardiology**, v. 74, p. 1133-1136, 1994.

KUMAR, R.; HOOD, W. B. Jr.; JOISON, J.; NORMAN, J. C.; ABELMANN, W. H. Relationship between the Resistive Index and Vascular Compliance and Resistance 1. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 49, p. 55-62, 1970.

LAURENT, S.; BOUTOUYRIE, P. Recent advances in arterial stiffness and wave reflection in human hypertension. **Hypertension**, v. 49, p. 1202-1206, 2007.

LEAL, L. M.; DE FREITAS, H. M. G.; SASAHARA, T. H. C.; MACHADO, M. R. The Hindlimb Arterial Vessels in Lowland paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v.45, p. 154-157, 2016.

LEE, H. K.; CANNON, C. P. Approach to the patient with chest pain. In: ZIPES, D.P.; LIBBY, P.; BONOW, R. O.; BRAUNWALD, E. **Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier, 2005. p. 1129-1139.

LEJEMTEL, T. H.; MASKIN, C. S.; LUCIDO, D.; CHADWICK, B. J. Failure to augment maximal limb blood flow in response to oneleg versus two-leg exercise in patients with severe heart failure. **Circulation**, v. 74, p.245-251, 1986.

LEOSCO, D.; RENGO, G.; IACCARINO, G.; GOLINO, L.; MARCHESE, M.; FORTUNATO, F.; ZINCARELLI, C.; SANZARI, E.; CICCARELLI, M.; GALASSO, G.; ALTOBELLI, G. G.; CONTI, V.; MATRONE, G.; CIMINI, V.; FERRARA, N.; FILIPPELLI, A.; KOCH, W. J.; RENGO, F. Exercise promotes angiogenesis and improves

beta-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. **Cardiovascular Research**, v. 78, p. 385-394, 2008.

LEVICK, J. R. Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors. **Experimental Physiology**, v. 76, p. 825-57, 1991.

LEVINE, B.; KALMAN, J.; MAYER, L.; FILLIT, H. M.; PACKER, M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 236-241, 1990.

LEVINE, T. B., FRANCIS, G. S., GOLDSMITH, S. R., SIMON, A. B., COHN, J. N. Activity of the sympathetic nervous system and renin-angiotensin system assessed by plasma hormone levels and their relation to hemodynamic abnormalities in congestive heart failure. **The American Journal of Cardiology**, v. 49, p. 1659-1666, 1982.

LI, S.; MOON, J. J.; MIAO, H.; JIN, G.; CHEN, B. P.; YUAN, S.; HU, Y.; USAMI, S.; CHIEN, S. Signal transduction in matrix contraction and the migration of vascular smooth muscle cells in three-dimensional matrix. **Journal of Vascular Research**, v. 40, p. 378-388, 2003.

LIAO, Z. Y.; PENG, M. C.; YUN, C. H.; LAI, Po. H. L.; HOU, J. Y.; HUNG, C. L.; WU, Y. J.; BULWER, B. E.; YEH, H. I.; TSAI, C. H. Relation of carotid artery diameter with cardiac geometry and mechanics in heart failure with preserved ejection fraction. **Journal of American Heart Association**, 2012 Dec;1(6):e003053. doi: 10.1161/JAHA.112.003053. Epub 2012 Dec 19.

LIBONATI, J. R. Exercise and diastolic function after myocardial infarction. **Medicine and Science in Sport and Exercise**, v. 35, 1471-1476, 2003.

LINDSAY, D. C.; HOLDRIGHT, D. R.; CLARKE, D.; ANAND, I. S.; POOLE-WILSON, P.; COLLINS, P. Endothelial control of lower limb blood flow in chronic heart failure. **Heart**, v. 75, p. 469-476, 1996.

LINDSAY, D. C.; JIANG, C.; BRUNOTTE, F.; ADAMOPOULOS, S.; COATS, A. J. S.; RAJAGOPALAN, B.; POOLE-WILSON, P. A.; COLLINS, P. Impairment of endothelium dependent responses in a rat model of chronic heart failure: effects of an exercise training protocol. **Cardiovascular Research**, v. 26, p. 694-697, 1992.

LOIRAND, G.; GUERIN, P.; PACAUD, P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. **Circulation Research**, v. 98, p. 322-334, 2006.

LUCCHESI, P. A.; SABRI, A.; BELMADANI, S.; MATROUGUI, K. Involvement of metalloproteinases 2/9 in epidermal growth factor receptor transactivation in pressure induced myogenic tone in mouse mesenteric resistance arteries. **Circulation**, v. 110, p. 3587-3593, 2004.

LUCHNER, A.; STEVENS, T. L.; BORGESON, D. D.; REDFIELD, M.; WEI, C. M.; PORTER, J. G.; BURNETT, J. C. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 274, 1684-1689, 1998.

LUKÁCS, E.; MAGYARI, B.; TÓTH, L.; PETRÁSI, Z. S.; REPA, I.; KOLLER, A.; HORVÁTH I. Overview of large animal myocardial infarction models. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 99, p. 365-381, 2012.

LUNDEVALL, J.; MELLANDER, S.; SPARKS, H. Myogenic response of resistance vessels and precapillary sphincters in skeletal muscle during exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 70, p. 257-268, 1967.

LUNDEVALL, J.; MELLANDER, S.; WESTLING, H.; WHITE, T. Dynamics of fluid transfer between the intra- and extravascular compartments during exercise. *Acta physiologica scandinavica*. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 80, p. 31-32, 1970.

LUNDEVALL, J.; MELLANDER, S.; WESTLING, H.; WHITE, T. Fluid transfer between blood and tissues during exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 85, p. 258-269, 1972.

MACKINNON, J. L. Study of Doppler ultrasonic peripheral vascular assessments performed by physical therapists. **Physical Therapy**, v. 63, p. 30-34. 1983.

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. 682-689, 2010.

MAGGI, C. A.; MELI, A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. Part 2: Cardiovascular system. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 42, p. 292-297, 1986.

MAIORANA, A. J.; NAYLOR, L. H.; EXTERKATE, A.; SWART, A.; THIJSSSEN, D. H.; LAM, K.; O'DRISCOLL, G.; GREEN, D. J. The impact of exercise training on conduit artery wall thickness and remodeling in chronic heart failure patients. **Hypertension**, v. 57, p. 56-62, 2011.

MANCINI, D. M.; WALTER, G.; REICHEK, N.; LENKINSKI, R.; MCCULLY, K. K.; MULLEN, J. L.; WILSON, J. R. Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. **Circulation**, v. 85, p. 1364-1373, 1992.

MARTINEZ-LEMUS, L. A.; CROW, T.; DAVIS, M. J.; MEININGER, G. A. $\alpha_v\beta_3$ - and $\alpha_5\beta_1$ -integrin blockade inhibits myogenic constriction of skeletal muscle resistance arterioles. **American Journal of Physiology**, v. 289, p. 322-329, 2005.

MARTINEZ-LEMUS, L. A.; HILL, M. A.; MEININGER, G. A. The Plastic Nature of the Vascular Wall: A Continuum of Diameter and Structure Remodeling Events Contributing to Control of Arteriolar. **Physiology**, v. 24, p. 45-57, 2009.

MARTINEZ-LEMUS, L. A.; WU, X.; WILSON, E.; HILL, M. A.; DAVIS, M. J.; MEININGER, G. A. Integrins as unique receptors for vascular control. **Journal of Vascular Research**, v. 40, p. 211-233, 2003.

MATCHKOV, V. V.; TARASOVA, O. S.; MULVANY, M. J.; NILSSON H. Myogenic response of rat femoral small arteries in relation to wall structure and $[Ca^{2+}]_i$. **American Journal of Physiology. Heart and Circulation Physiology**, v. 283, p. 118-125, 2002.

MCGRATH, M. F.; DE BOLD, M. L.; DE BOLD, A. J. The endocrine function of the heart. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 16, p. 469-477, 2005.

MCGREGOR, G.; GAZE, D.; OXBOROUGH, D.; O'DRISCOLL, J.; SHAVE, R. Reverse left ventricular remodelling - effect of cardiac rehabilitation exercise training in myocardial infarction patients with preserved ejection fraction. **European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine**, v. 52, p. 370-378, 2016.

MCMMASTER, P. D. The lymphatics and lymph flow in the edematous skin of human beings with cardiac and renal disease. **The Journal of Experimental Medicine**, v.65, p. 373-392, 1937.

MCMURRAY, J. J.; ADAMOPOULOS, S.; ANKER, S.D.; et al.; ESC COMMITTEE FOR PRACTICE GUIDELINES. ESC guidelines for diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **European Journal of Heart Failure**, v. 14, p. 803-869, 2012.

MCMURRAY, J. J.; RAY, S. G.; ABDULLAH, I.; DARGIE, H. J.; MORTON, J. J. Plasma endothelin in chronic heart failure. **Circulation**, v. 85, p. 1374-1379, 1992.

MELLANDER, S.; MASPERS, M.; BJÖRNBERG, J.; ANDERSSON, L. O. Autoregulation of capillary pressure and filtration in cat skeletal muscle in states of normal and reduced vascular tone. **Acta Physiologica**, v. 129, p. 337-351, 1987.

MELO, R. M.; MARTINHO, E. Jr.; MICHELINI, L. C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. **Hypertension**, v. 42, p. 851-857, 2003.

MEININGER, G. A.; DAVIS, M. J. Cellular mechanisms involved in the vascular myogenic response. **American Journal of Physiology**, v. 263, p. 647-659, 1992.

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.

MILL, J. G.; STEFANON, L.; SANTOS, L.; BALDO, M. P. Remodeling in the ischemic heart failure: the stepwise progression for heart failure. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 890-898, 2011.

MILLER, A. A.; MEGSON, I. L.; GRAY, G. A.; Inducible nitric oxide synthase-derived superoxide contributes to hyperactivity in small mesenteric arteries from a rat model of chronic heart failure. **British Journal of Pharmacology**, v. 131, p. 29-36, 2000.

MITA, M.; YANAGIHARA, H.; HISHINUMA, S.; SAITO, M.; WALSH, M. P. Membrane depolarization-induced contraction of rat caudal arterial smooth muscle involves Rho-associated kinase. **Biochemical Journal**, v. 364, p. 431-440, 2002.

MIYATA, K.; HITOMI, H.; GUO, P.; ZHANG, G. X.; KIMURA, S.; KIYOMOTO, H.; HOSOMI, N.; KAGAMI, S.; KOHNO, M.; NISHIYAMA, A. Possible involvement of Rho-kinase in aldosterone-induced vascular smooth muscle cell remodeling. **Hypertension Research**, v. 31, p. 1407-1413, 2008.

MONCADA, S.; PALMER, R. J. M.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, 43, 109-142, 1991.

MONCADA, S.; VANE, J. R. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. **Pharmacological Reviews**, v.30, p. 293-331, 1979.

MORAES, R. S.; NÓBREGA, A. C. L.; CASTRO, R. R. T.; et al. Diretriz de Reabilitação Cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, p. 431-40, 2005.

MORISSETTE, M.; WEIL, M. H.; SHUBIN, H. Reduction in colloid osmotic pressure associated with fatal progression of cardiopulmonary failure. **Critical care medicine**, v. 3, p. 115-117, 1975.

MORITA, H.; HONDA, A.; INOUE, R.; ITO, Y.; ABE, K.; NELSON, M. T.; BRAYDEN, J. E. Membrane stretch-induced activation of a TRPM4-like nonselective cation channel in cerebral artery myocytes. **Journal of Pharmacological Science**, v. 103, p. 417-426, 2007.

MOURLON-LE GRAND, M. C.; POITEVIN, P.; BENESSIANO, J.; DURIEZ, M.; MICHEL, J. B.; LEVY, B. I. Effect of a nonhypotensive long-term infusion of ANP on the mechanical and structural properties of the arterial wall in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **Arteriosclerosis and Thrombosis: a Journal of Vascular Biology. American Heart Association**, v. 13, p. 340-650, 1993.

MULDER, P.; ELFERTAK, L.; RICHARD, V.; COMPAGNON, P.; DEVAUX, B.; HENRY, J. P.; SCALBERT, E.; DESCHÉ, P.; MACÉ, B.; THUILLEZ, Z. C. Peripheral artery structure and endothelial function in heart failure: effect of ACE inhibition. **The American Journal of Physiology**, v. 271, p. 469-474, 1996.

MULLER, J. M.; DAVIS, M. J.; CHILIAN, W. M. Integrated regulation of pressure and flow in the coronary microcirculation. **Cardiovascular Research**, v. 32, p. 668-678, 1996.

MULLER, J. M.; MYERS, P. R.; LAUGHLIN, M. H. Exercise training alters myogenic responses in porcine coronary resistance arteries. **Journal of Applied Physiology**, v. 75, p. 6, 2677-2682, 1993.

MULVANY, M. J.; HALPERN, W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. **Circulation Research**, v. 41, p. 19-26, 1977.

MULVANY, M. J. Vascular remodelling of resistance vessels: can we define this? **Cardiovascular Research**, v.41, p. 9-13, 1999.

MULVANY, M. J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **European Journal of Physical Rehabilitation Medicine**, v. 70, p. 921-961, 1990.

MULVANY, M. J.; BAUMBACH, G. L.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A. M.; KORSGAARD, N.; SCHIFFRIN, E. L.; HEISTAD, D. D. Vascular remodeling. **Hypertension**, v.28, p. 505-506, 1996.

MULVANY, M.J.; KORSGAARD, N. Correlations and otherwise between blood pressure, cardiac mass and resistance vessel characteristics in hypertensive, normotensive and hypertensive/normotensive hybrids rats. **Journal of Hypertension**, v. 1, p. 235-244, 1983.

MURPHY, T. V.; SPURRELL, B. E.; HILL, M. A. Cellular signalling in arteriolar myogenic constriction: involvement of tyrosine phosphorylation pathways. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 29, p. 612-619, 2002.

MUSCH, T. I.; TERRELL, J. A. Skeletal muscle blood flow abnormalities in rats with a chronic myocardial infarction: rest and exercise. **American Journal of Physiology**, v. 262.p. 411-419, 1992.

NAOKI, F.; PRASAD, A.; HASTINGS, J. L.; BHELLA, P. S.; SHIBATA, S.; PALMER, D.; LEVINE, B. D. Cardiovascular effects of 1 year of progressive endurance exercise training in patients with heart failure with preserved ejection fraction. **American Heart Journal**, v. 164, p. 869-877, 2012.

NARAYANAN, J.; IMIG, M.; ROMAN, R. J.; HARDER, D. R. Pressurization of isolated renal arteries increases inositol trisphosphate and diacylglycerol. **American Journal of Physiology**, v. 266, p. 1840-1845, 1994.

NEGRÃO, C. E.; MIDDLEKAUFF, H. R. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 13, p. 51-60, 2008.

OGUT, O.; BROZOVICH, F. V. Regulation of force in vascular smooth muscle. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 35, p. 347-355, 2003.

OLSON, T. P.; JOYNER, M. J.; NIKI, M. D.; EISENNACH, J. H.; CURRY, T. C.; JOHNSON, B. D. Effects of respiratory muscle work on blood flow distribution during exercise in heart failure. **The Journal of Physiology**, v. 588, p. 2487-2501, 2010.

ONTKEAN, M.; GAY, R.; GREENBERG, B. Diminished endothelium-derived relaxing factor activity in an experimental model of chronic heart failure. **Circulation Research**, v. 69, p. 1088-1096, 1991.

ORENSTEIN, T. L.; PARKER, T. G.; BUTANY, J. W.; GOODMAN, J. M.; DAWOOD, F.; WEN, W. H.; WEE, L.; MARTINO, T.; MCLAUGHLIN, P. R.; LIU, P. P. Favorable left ventricular remodeling following large myocardial infarction by exercise training. Effect on ventricular morphology and gene expression. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 96, p. 858-866, 1995.

OSOL, G.; HALPERN, W. Myogenic properties of cerebral blood vessels from normotensive and hypertensive rats. **American Journal of Physiology**, v. 249, p. 914-921, 1985.

PALMER, M. R. J.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, p. 524-526, 1987.

PARNELL, M. M.; HOLST, D. P.; KAYE, D. M. Exercise training increases arterial compliance in patients with congestive heart failure. **Clinical Science**, v. 102, p. 1-7, 2002.

PASTERNAK, R. C.; BRAUNWALD, E.; SOBEL, B. E. Infarto Agudo do Miocárdio. In: BRAUNWALD, E.; ZIPES, D.P.; LIBBY, P. (eds.). **Tratado de Medicina Cardiovascular**, 6. ed. São Paulo: Roca, 2003. v. 2, p. 1281-1375.

PATEL, J. J.; WHITTAKER, C. T. Tachycardia-induced heart failure. **The Permanente Journal**, v. 11, p. 50, 2007.

PEREIRA, R. B.; SARTÓRI, C. L.; VASSALLO, D. V.; STEFANON, I. Differences in Tail Vascular Bed Reactivity in Rats with and without Heart Failure following Myocardial Infarction. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 312, p. 1321-1325, 2005.

PERRIN, M.; GUEX, J. J. Edema and leg volume: methods of assessment. **Angiology**, v. 51, p. 9-12, 2000.

PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; FLETCHER, P. J.; BRAUNWALD, E. Ventricular performance in rats with myocardial infarction and failure. **The American Journal of Medicine**, v. 76, p. 99-103, 1984.

PFEFFER, M. A.; PFEFFER, J. M.; FISHBEIN, P. J.; FLETCHER, P. J.; SPADARO, J.; KLONER, R. A.; BRAUNWALD, E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circulation Research**, v. 44, p. 503-512, 1979.

PFEFFER, M. A.; BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. **Circulation**, v.81, p. 1161-1172, 1990.

PIÑA, I. L.; APSTEIN, C. S.; BALADY, G. J.; BELARDINELLI, R.; CHAITMAN, B. R.; DUSCHA, B. D.; FLETCHER, B. J.; FLEG, J. L.; MYERS, J. N.; SULLIVAN, M. J.; American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. Exercise and heart failure: A statement from the American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. **Circulation**, v. 107, p. 1210-1225, 2003.

POURAGEAUD, F.; DE MEY, J. G. Vasomotor responses in chronically hyperperfused and hypoperfused rat mesenteric arteries. **The American Journal of Physiology**, v. 274, p. 1301-1307, 1998.

PRIES, A. R.; REGLIN, B.; SECOMB, T. W. Structural adaptation of vascular networks: role of the pressure response. **Hypertension**, v. 38, p. 1476-1479, 2001.

PRUTHI, D.; MCCURLEY, A.; ARONOVITZ, M.; GALAYDA, C.; KARUMANCHI, S. A.; JAFFE, I. Z. Aldosterone promotes vascular remodeling by direct effects on smooth muscle cell mineralocorticoid receptors. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, p. 355-364, 2014.

PUNZENGRUBER, C.; STANEK, B.; SINZINGER, H.; SILBERBAUER, K. Bicycloprostaglandin E2 metabolite in congestive heart failure and relation to vasoconstrictor neurohumoral principles. **The American Journal of Cardiology**, v. 57, p. 619-623, 1986.

RAINA, H.; ELLA, S.R.; HILL, M. A. Decreased activity of the smooth muscle Na⁺/Ca²⁺ exchanger impairs arteriolar myogenic reactivity. **The Journal of Physiology**, v. 586, p. 1669-1681, 2008.

RECCHIA, F. A.; MCCONNELL, P. I.; BERNSTEIN, R. D.; VOGEL, T. R.; XU, X.; HINTZE, T. H. Reduced Nitric Oxide Production and Altered Myocardial Metabolism During the Decompensation of Pacing-Induced Heart Failure in the Conscious Dog. **Circulation Research**, v. 83, p. 969-979, 1998.

REIMER, K. A.; LOWE, J. E.; RASMUSSEN, M. M.; JENNINGS, R. B. The wave front phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. **Circulation**, v. 56, p. 786-794, 1977.

RESNIK, H.; FRIEDMAN, B. Studies on the mechanism of the increased oxygen consumption in patients with cardiac disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 551-652, 1935.

RIPSA – Rede Interagencial de Informação para a Saúde. Ministério da Saúde/SE/Datasus – Sistema de Informações Hospitalares do SUS – SIH/SUS. IBGE: base demográfica. 2013. Disponível em: <<http://tabnet2.datasus.gov.br/cgi/idb2013/matriz.htm#mort>>. Acesso em: 01 jan. 2017.

ROBLES, J. C.; STUREK, M.; PARKER, J. L.; HEAPS, C. L. Ca²⁺ sensitization and PKC contribute to exercise training-enhanced contractility in porcine collateral-dependent coronary arteries. **American Journal of Physiology**, v. 300, p. 1201-1209, 2011.

ROLIM, N. P.; MEDEIROS, A.; ROSA, K. T.; MATTOS, K. C.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M.; NEGRÃO, C. E.; BRUM, P. C. Exercise training improves the net balance of cardiac Ca²⁺ handling protein expression in heart failure. **Physiological genomics**, 29, 246-252, 2007.

ROMAN, R. J.; HARDER, D. R. Cellular and ionic signal transduction mechanisms for the mechanical activation of renal arterial vascular smooth muscle. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 4, p. 986-996, 1993.

ROQUE, F. R.; BRIONES, A. M.; GARCÍA-REDONDO, A. B.; GALÁN, M.; MARTÍNEZ-REVELLES, S.; AVENDAÑO, M. S.; CACHOFEIRO, V.; FERNANDES, T.; VASSALLO, D. V.; OLIVEIRA, E. M.; SALAICES, M. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. **British Journal of Pharmacology**, v. 168, p. 686–703, 2013.

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.

RUBANYI, G.M.; VANHOUTTE, P. M. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. **The American Journal of Physiology**, v. 250, p. 815-821, 1986.

SAHN, D. J.; DEMARIA, A.; HISSLO, J.; WEYMAN, A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiographic measurements. **Circulation**, v. 58, p. 1072-1083, 1998.

SAKURADA, S.; TAKUWA, N.; SUGIMOTO, N.; WANG, Y.; SET, M.; SASAKI, Y.; TAKUWA, Y. Ca^{2+} -dependent activation of Rho and Rho-kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. **Circulation Research**, v. 93, p. 548-556, 2003.

SARTÓRIO, C. L.; FRACCAROLLO, D.; GALUPPO, P.; LEUKE, M.; ERTL, G.; STEFANON, I.; BAUERSACHS, J. Mineralocorticoid receptor blockade improves vasomotor dysfunction and vascular oxidative stress early after myocardial infarction. **Hypertension**, v. 50, p. 919-925, 2007.

SARTÓRIO, C. L.; PINTO, V. D.; CUTINI, G. J.; VASSALLO, D. V.; STEFANON, I. Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition on the rat tail vascular bed reactivity three days after myocardium infarction. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 45, p. 321-326, 2005.

SCHIEFFER, B.; WOLLERT, K. C.; BERCHTOLD, M.; SAAL, K.; SCHIEFFER, E.; HORNIG, B.; RIEDE, U. N.; DREXLER, H. Development and prevention of skeletal muscle structural alterations after experimental myocardial infarction. **The American Journal of Physiology**, v. 38, p. 1507-1513, 1995.

SCHIFFRIN, E. L. Vascular endothelin in hypertension. **Vascular Pharmacology**, v. 43, p. 19-29, 2005.

SCHILLER, N. B.; SHAH, P. M.; CRAWFORD, M.; et al. Recommendations for quantification 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. 358-367, 1989.

SCHUBERT, R., MULVANY, M. J. The myogenic response: established facts and attractive hypotheses. **Clinical Science**, v. 96, p. 313-326, 1999.

SCHUBERT, R.; KALENTCHUK, V. U.; KRIEN, U. Rho kinase inhibition partly weakens myogenic reactivity in rat small arteries by changing calcium sensitivity. **American Journal of Physiology. Heart and Circulation Physiology**, v. 283, p. 2288-2295, 2002.

SCHWARZ, M.; KATZ, S. D.; DEMOPOULOS, L.; HIRSCH, H.; YUEN, J. L.; JONDEAU, G.; LEJEMTEL, T. H. Enhancement of endothelium-dependent vasodilatation by low-dose nitroglycerin in patients with congestive heart failure. **Circulation**, v. 89, p. 1609-1614, 1994.

SILVER, M. A.; MAISEL, A.; YANCY, C. W.; MCCULLOUGH, P. A.; BURNETT, J. C.; FRANCIS, G. S.; MEHRA, M. R.; PEACOCK, W. F. 4TH; FONAROW, G.; GIBLER, W. B.; MORROW, D. A.; HOLLANDER, J. BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. **Congestive Heart Failure**, v. 10, p. 1-30, 2004.

SLENTZ, C. A.; AIKEN, L. B.; HOUMARD, J. A.; BALES, C. W.; JOHNSON, J. L.; TANNER, C. J.; DUSCHA, B. D.; KRAUS, W. E. Inactivity, exercise, and visceral fat. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, p. 1613-1618, 2005.

SLENTZ, C. A.; DUSCHA, B. D.; JOHNSON, J. L.; KETCHUM, K.; AIKEN, L. B.; SAMSA, G. P.; HOUMARD, J. A.; BALES, C. W.; KRAUS, W. E. Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STRRIDE--a randomized controlled study. **Archives of Internal Medicine**, v. 164, p. 31-9, 2004.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological Reviews**, v. 83, p. 1325-1358, 2003.

SØRENSEN, V. B.; WROBLEWSKI, H.; GALATIUS, S.; HAUNSØ, S.; KASTRUP, J. Exercise Skeletal Muscle Blood Flow Is Related to Peripheral Microvascular Stiffness in Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. **Microvascular Research**, v. 58, p. 268-280, 1999.

SPINALE, F. G.; VILLARREAL, F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: Lessons from endogenous inhibitors. **Biochemical Pharmacology**, v. 90, p. 7-15, 2014.

SUDOH, T.; MINAMINO, N.; KANGAWA, K.; MATSUO, H. Brain natriuretic peptide-32: N-terminal six amino acid extended form of brain natriuretic peptide identified in porcine brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 155, p. 726-732, 1988.

STARLING, E. H. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. **The Journal of Physiology**, v. 19, p. 312-326, 1896.

STASSEN, F. R.; WILLEMSSEN, M. J.; JANSSEN, G. M.; FAZZI, G. E.; SCHIFFERS, P. M.; SMITS, J. F.; DE MEY, J. G. Reduced responsiveness of rat mesenteric resistance artery smooth muscle to phenylephrine and calcium following myocardial infarction. **British Journal Pharmacology**, v. 120, p. 1505-1512, 1997.

STATHOPOULOS, P. B.; LU, X.; SHEN, J.; SCOTT, J. A.; HAMMOND, J. R.; MCCORMACK, D. G.; ARNOLD, J. M.; FENG, Q. Increased L-arginine uptake and inducible nitric oxide synthase activity in aortas of rats with heart failure. **American Journal of Physiology, Heart and Circulation Physiology**, v. 280, p. 859-867, 2001.

STEFANON, I.; AUXILIADORA-MARTINS, M.; VASSALLO, D. V.; MILL, J. G. Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 27, p. 2667-2679, 1994.

STEVENSON, L. W.; FONAROW G. C. Endothelin and the Vascular Choir in Heart Failure. **Journal of American College of Cardiology**, v. 20, p. 854-857, 1992.

SULLIVAN, M. J.; HIGGINBOTHAM, M. B.; COBB, F. R. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction: hemodynamic and metabolic effects. **Circulation**, v.78, p. 506-15, 1988.

SULLIVAN, M. J.; KNIGHT, J. D.; HIGGINBOTHAM, M. B.; COBB, F. R. Relation between control and peripheral hemodynamics during exercise in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v. 80, p. 769-781, 1989.

SUN, D.; KALEY, G; KOLLER, A. Characteristics and origin of myogenic response in isolated gracilis muscle arterioles. **American Journal of Physiology**, v.266, p. 1177-1183, 1994.

SUN, Z, MARTINEZ-LEMUS, L. A.; TRACHE, A.; TRZECIAKOWSKI, J. P.; DAVIS, G. E.; POHL, U.; MEININGER, G. A. Mechanical properties of the interaction between fibronectin and alpha5beta1-integrin on vascular smooth muscle cells studied using atomic force microscopy. **American Journal of Physiology**, v. 289, p. 2526-2535, 2005.

SUN, Z.; LI, Z.; MEININGER, G. A. Mechanotransduction through fibronectin-integrin focal adhesion in microvascular smooth muscle cells: is calcium essential? **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 302, p. 1965-1973, 2012.

SUN, Z.; MARTINEZ-LEMUS, L. A.; HILL, M.A.; MEININGER, G. Extracellular matrix-specific focal adhesions in vascular smooth muscle produce mechanically active adhesion sites. **American Journal of Physiology**, v. 295, p. 268-278, 2008.

SWEDBERG, K.; CLELAND, J.; DARGIE, H.; et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005). **European Heart Journal**, v. 26, p. 1115-1140, 2005.

SWEDBERG, K.; ENEROTH, P.; KJEKSHUS, J.; WILHELMSEN, L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. Consensus trial study group. **Circulation**, v. 82, p. 1730-1736, 1990.

TABNET. Tecnologia DATASUS. Prefeitura do Estado de São Paulo. Óbitos Residentes MSP por Causas específicas segundo Município de residência Período: 2014. Óbitos Residentes MSP por Causas específicas segundo Município de residência. Disponível em: <<http://tabnet.saude.prefeitura.sp.gov.br/cgi/tabcgi.exe?secretarias/saude/TABNET/SIM/obito.def>>. Acesso em: 01 jan. 2017.

TAYLOR, R. S.; BROWN, A.; EBRAHIM, S.; JOLLIFFE, J.; NOORANI, H.; REES, K.; SKIDMORE, B.; STONE, J.A.; THOMPSON, D. R.; OLDRIDGE, N. Exercise-based

rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The American Journal of Medicine**, v. 116, p. 682-692, 2004.

TEERLINK, J. R.; GRAY, G. A.; CLOZEL, M.; CLOZEL, J. P. Increased vascular responsiveness to norepinephrine in rats with heart failure is endothelium dependent: dissociation of basal and stimulated nitric oxide release. **Circulation**, v. 89, p. 393-401, 1994.

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. 615-620, 1993.

THYGESEN, K.; ALPERT, J. S.; JAFFE, A. S.; SIMOONS, M. L.; CHAITMAN, B. R.; WHITE, H. D. Third universal definition of myocardial infarction. **Circulation**, v.7, p. 275-295, 2012.

TRAUTNER, S.; AMTORP, O.; BOESGAARD, S.; ANDERSEN, C.B.; GALBO, H.; HAUNSOE, S.; SHEYKHZADE, M. Noradrenaline-induced increases in calcium and tension in skeletal muscle conductance and resistance arteries from rats with post-infarction heart failure. **European Journal of Pharmacology**, v. 537, p. 143-154, 2006.

TREMBLAY, A.; SIMONEAU, J. A.; BOUCHARD, C. Impact of exercise intensity on body fatness and skeletal muscle metabolism. **Metabolism**, v. 43, p. 814-818 1994.

UMANA, E.; SOLARES, C. A.; ALPERT, M. A.. Tachycardia-induced cardiomyopathy. **The American Journal of Medicine**, v. 114, p. 51-55, 2003.

VAN DEN AKKER, J.; SCHOORL, M. J. C.; BAKKER, E. N. T. P.; VANBAVEL, E. Small Artery remodeling: current concepts and questions. **Journal of Vascular Research**, v. 47, p. 183-202, 2010.

VAN DER ZANDER, K.; HOUBEN, A. J.; KROON, A. A.; DE LEEUW, P. W. Effects of brain natriuretic peptide on forearm vasculature: comparison with atrial natriuretic peptide. **Cardiovascular Research**, v. 44, p. 595-600, 1999.

VAN NIEUW AMERONGEN, G. P.; VAN HINSBERGH, V. W. Cytoskeletal effects of Rho-like small guanine nucleotide-binding proteins in the vascular system. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 21, p. 300-311, 2001.

VAN VARIK, B. J.; RENNENBERG, R. J.; REUTELINGSPERGER, C. P.; KROON, A. A.; DE LEEUW, P. W.; SCHURGERS, L. J. Mechanisms of arterial remodeling: lessons from genetic diseases. **Frontiers in Genetics**, v. 3, p. 1-10, 2012.

VANBAVEL, E.; WESSELMAN, J. P.; SPAAN, J. A. Myogenic activation and calcium sensitivity of cannulated rat mesenteric small arteries. **Circulation Research**, v. 82, p. 210-210, 1998.

VANHOUTTE, P. M. Adjustments in the peripheral circulation in chronic heart failure. **European Heart Journal**, v. 4, p. 67-83, 1983.

VANHOUTTE, P. M. Endothelium-dependent responses in congestive heart failure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 28, p. 2233-2240, 1996.

VARIN, R.; MULDER, P.; RICHARD, V.; TAMION, F.; DEVAUX, C.; HENRY, J.P.; LALLEMAND, F.; LEREBOURS, G.; THUILLEZ, C. Exercise improves flow-mediated vasodilatation of skeletal muscle arteries in rats with chronic heart failure: role of nitric oxide, prostanoids, and oxidant stress. **Circulation**, v. 99, p. 2951-2957, 1999.

VAUGHAN, D. E.; PFEFFER, M. A. Post-myocardial infarction ventricular remodeling: animal and human studies. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 8, p. 453-460, 1994.

VOLICER, L.; LOEW, C. G. The effect of urethane anesthesia on the cardiovascular action of angiotensin II. **Pharmacology**, v. 6, p. 193-201, 1971.

WANG, J.; SEYEDI, N.; XU, X. B.; WOLIN, M. S.; HINTZE, T. H. Defective endothelium-mediated control of coronary circulation in conscious dogs after heart failure. **The American Journal of Physiology**, v. 266, p. 670-680, 1994.

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 post myocardial infarction rats via a PI3K/Akt/eNOS pathway-mediated mechanism. **American Journal of Physiology**, v. 299, p. 2097-2106, 2010.

WARREN, J. V.; STEAD, E. A. Fluid dynamics in chronic congestive heart failure: An interpretation of the mechanisms producing the edema, increased plasma volume and elevated venous pressure in certain patients with prolonged congestive failure. **Archives of Internal Medicine**, v. 73, p. 138-147, 1944.

WATANABE J, HORIGUCHI S, KARIBE A, KEITOKU M, TAKEUCHI M, SATOH S, TAKISHIMA T, SHIRATO K. Effects of ryanodine on development of myogenic response in rat small skeletal muscle arteries. **Cardiovascular Research**, v. 28, p. 480-484, 1994.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**, v. 27, p. 201-206, 2003.

WELSH, D. G.; MORIELLI, A. D.; NELSON, M. T.; BRAYDEN, J. E. Transient receptor potential channels regulate myogenic tone of resistance arteries. **Circulation Research**, v. 90, p. 248-250, 2002.

WÉGRIA, R.; ENTRUP, R. W.; JUE, J.; HUGHES, M. A new factor in pathogenesis of edema of cardiac origin. **American Journal of Physiology--Legacy Content**, v. 213, p. 94-101, 1967.

WENCESLAU, C. F.; MCCARTHY, C. G.; SZASZ, T.; WEBB, R. C. Lipoxin A4 mediates aortic contraction via RHOA/RHO kinase, endothelial dysfunction and reactive oxygen species. **Journal of Vascular Research**, v. 51, p. 407-417, 2014.

WESSELMAN, J. P.; VANBAVEL, E.; PFAFFENDORF, M.; SPAAN, J. A. Voltage-operated calcium channels are essential for the myogenic responsiveness of cannulated rat mesenteric small arteries. **Journal of Vascular Research**, v. 33, p. 32-41. 1996.

WHO. World Health Organization. Media Centre. Factsheet N°317. September 2012. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html#> Acesso em: março de 2015.

WILLIAMS, P. T.; KRAUSS, R. M.; VRANIZAN, K. M.; ALBERS, J. J.; TERRY, R. B.; WOOD, P.D. Effects of exercise-induced weight loss on low density lipoprotein subfractions in healthy men. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 9, p. 623-632, 1989.

WILSON, J. R.; MARTIN, J. L.; SCHWARTZ, D.; FERRARO, N. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure: role of impaired nutritive flow to skeletal muscle. **Circulation**, v. 69, p. 1079-1087. 1984.

WILSON, J. R.; FALCONE, R.; FERRARO, N.; EGLER, J. Mechanism of skeletal muscle under perfusion in a dog model of low-output heart failure. **The American Journal of Physiology**, v. 251, p. 227-235, 1986b.

WILSON, J. R.; WIENER, D. H.; FINK, L. I.; FERRARO, N. Vasodilatory behavior of skeletal muscle arterioles in patients with nonedematous chronic heart failure. **Circulation**, v. 74, p. 775-779, 1986a.

XAVIER, F. E.; DAVEL, A. P.; ROSSONI, L. V.; VASSALLO, D. V. Time-dependent hyperreactivity to phenylephrine in aorta from untreated diabetic rats: role of prostanoids and calcium mobilization. **Vascular Pharmacology**, v. 40, p. 67-76, 2003.

YANG, J.; NOYAN-ASHRAF, M. H.; MEISSNER, A.; VOIGTLAENDER-BOLZ, J.; KROETSCH, J. T.; FOLTZ, W.; JAFFRAY, D.; KAPOOR, A.; MEMEN, A.; HEXIMER, S. P.; ZHANG, H.; VAN EEDE, M.; HENKELMAN, R. M.; MATTHEWS, S. G.; LIDINGTON, D.; HUSAIN, M.; BOLZ, S. S. Proximal cerebral arteries develop myogenic responsiveness in heart failure via tumor necrosis factor- α -dependent activation of sphingosine-1-phosphate signaling. **Circulation**, v. 126, p. 126, 196-206, 2012.

YEON, D. S.; KIM, J. S.; AHN, D. S.; KANG, B. S.; MORGAN, K. G.; LEE, Y. H. Role of protein kinase C- or RhoA-induced Ca^{2+} sensitization in stretch-induced myogenic tone. **Cardiovascular Research**, v. 53, p. 431-438, 2002.

YSHII, L. M.; SOUZA, G. H.; CAMARGO, E. A.; EBERLIN, M. N.; RIBELA, M. T.; MUSCARÁ, M. N.; HYSLOP, S.; COSTA, S. K. Characterization of the mechanisms underlying the inflammatory response to *Polistes lanio lanio* (paperwasp) venom in mouse dorsal skin. **Toxicon**, v. 53, p. 42-52, 2009.

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.

ZELIS R., FLAIM, S. F. Alterations in vasomotor tone in congestive heart failure. **Progress in Cardiovascular Disease**, v. 24, p. 437-459, 1982.

ZELIS, R., MASON, D. T.; BRAUNWALD, E. A comparison of the effects of vasodilator stimuli on peripheral resistance vessels in normal subjects and in patients with congestive heart failure. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 47, p. 960-970, 1968.

ZELIS, R.; FLAIM, S. F.; LIEDTKE, A. J.; NELLIS, S. H. Cardiocirculatory dynamics in the normal and failing heart. **Annual Review of Physiology**, v. 43, p. 455-476, 1981.

ZHANG, Y.; CHEN, A.; SONG, A.; LI, M.; LUO, Z.; ZHANG, W.; CHEN, Y.; HE, B. Low-level vagus nerve stimulation reverses cardiac dysfunction and subcellular calcium handling in rats with post-myocardial infarction heart failure. **International Heart Journal**, v. 57, p. 350-355, 2016.

ZIMMERMAN, R. S.; TRIPPODO, N. C.; MACPHEE, A.; MARTINEZ, A. J.; BARBEE, R. W. High-dose atrial natriuretic factor enhances albumin escape from the systemic but not the pulmonary circulation. **Circulation Research**, v. 67, p. 461-468, 1990.

ZORNOFF, L. A. M.; PAIVA, S. A. R.; MINICUCCI, M. F.; SPADARO, J. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo experimental. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, p. 434-440, 2009.