



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

LEONARDO GOMES PEREIRA

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE O TECIDO ADIPOSEO
PERIVASCULAR (PVAT) E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A
REATIVIDADE VASCULAR DE RATOS**

RECIFE

2020

LEONARDO GOMES PEREIRA

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE O TECIDO ADIPOSEO
PERIVASCULAR (PVAT) E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A
REATIVIDADE VASCULAR DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Elias Xavier

RECIFE

2020

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso CRB-4/1728

Pereira, Leonardo Gomes

Efeito do envelhecimento sobre o tecido adiposo perivascular (PVAT) e sua influência sobre a reatividade vascular de ratos / Leonardo Gomes Pereira– 2020.

92 f.: il., fig., tab.

Orientador: Fabiano Elias Xavier

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Envelhecimento 2. Sistema cardiovascular 3. Tecido adiposo I. Xavier, Fabiano Elias (orient.) II. Título

612

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-354

LEONARDO GOMES PEREIRA

**EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE O TECIDO ADIPOSEO
PERIVASCULAR (PVAT) E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A
REATIVIDADE VASCULAR DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovado em: 28/12/2020

COMISSÃO EXAMINADORA

Glória Isolina Boente Pinto Duarte

Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE

Valéria Nunes de Souza

Departamento de Fisiologia e Farmacologia – UFPE

Diego Barbosa de Queiroz

Colegiado de Nutrição - UPE - Petrolina

A minha mãe, por acreditar.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Fabiano Elias Xavier, pela paciência, incentivo, orientação e conhecimentos compartilhado.

À professora Glória Duarte, pelo incentivo e conselhos.

Às professoras Valéria Nunes e Cristina de Oliveira, pela atenção e apoio demonstrado.

A todos os amigos de laboratório, pela dedicação, auxílio nos experimentos, pelas manhãs e tardes compartilhando sonhos, necessidades, frustrações e alegrias. Muito obrigado.

À veterinária Claudia e aos técnicos José Antônio, Marcelo Rocha, Taís e Felipe, pelo cuidado com os animais.

À Maria Fernanda, secretária do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, pela disponibilidade.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

A todos que de forma direta ou indiretamente apoiaram e ajudaram na realização desta dissertação.

RESUMO

O envelhecimento promove alterações vasculares e aumenta o risco para doenças cardiovasculares. O tecido adiposo perivascular (PVAT) circunda a maioria dos vasos sanguíneos, protegendo-os e secretando fatores que modulam paracrinamente o tônus, a estrutura e a mecânica arterial. No entanto, a influência do envelhecimento na função do PVAT ainda é pouco compreendida. Hipotetizamos que o envelhecimento está associado à modificações do PVAT, conduzindo-o à(ao) perda/prejuízo de sua função vasoativa. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a função do PVAT na aorta torácica (TOR), aorta abdominal (ABD) e artérias mesentéricas de resistência (AMR) sobre a reatividade vascular de ratos Wistar jovens (03 meses de idade) e idosos (23 meses). Curvas de concentração-resposta à fenilefrina ou noradrenalina foram realizadas em anéis de aorta e AMR, respectivamente, na presença (+PVAT) e ausência (-PVAT) do PVAT e ausência de endotélio (E-). Para avaliar os mecanismos envolvidos na contração, curvas foram realizadas na presença do L-NAME (inibidor não-seletivo da sintase de óxido nítrico), do MnTMPyP (mimético da superóxido dismutase), e da indometacina (inibidor não-seletivo da ciclooxigenase). Em anéis de aorta TOR e AMR de animais jovens, a +PVAT reduziu a contração em relação aos anéis -PVAT, contudo, em animais idosos, a +PVAT não modificou a resposta contrátil na aorta TOR e AMR. Não houve diferença na resposta contrátil da aorta ABD em ambos os grupos. A inibição da sintase do óxido nítrico (NOS) na +PVAT aumentou a resposta contrátil na TOR e ABD animais jovens e velhos. Em AMR, a +PVAT aumentou a resposta em animais jovens e reduziu em animais idosos. No entanto, não houve modificação da resposta contrátil em anéis -PVAT em ambos os grupos. A incubação com MnTMPyP, e indometacina não modificou a resposta nas artérias de animais jovens, no entanto, reduziu a resposta nas três artérias na +PVAT de animais idosos, não modificando em anéis -PVAT. Nossos resultados sugerem que aos 23 meses de idade, ratos Wistar machos apresentam disfunção do PVAT, envolvendo a via do NO, desequilíbrio oxidativo e a participação de prostanóides derivados da ciclooxigenase.

Palavras-chaves: PVAT; envelhecimento; artéria aorta; AMR.

ABSTRACT

Aging promotes vascular changes and increases the risk for cardiovascular disease. The perivascular adipose tissue (PVAT) surrounds most blood vessels, protecting them and secreting factors that paracrinally modulate the tone, structure and arterial mechanics. However, the influence of aging on PVAT function is still poorly understood. We hypothesize that aging is associated with modifications of PVAT, leading it to the loss / damage of its vasoactive function. Therefore, the objective of this study was to evaluate the function of PVAT in the thoracic aorta (TOR), abdominal aorta (ABD) and mesenteric arteries of resistance (AMR) on the vascular reactivity of young Wistar rats (03 months of age) and elderly (23 months). Concentration-response curves to phenylephrine and noradrenaline were performed in aortic rings and AMR, respectively, in the presence (PVAT+) and absence (PVAT-) of PVAT and absence of endothelium (E-). To evaluate the mechanisms involved in the contraction, curves were performed in the presence of L-NAME (non-selective inhibitor of nitric oxide synthase), MnTMPyP (mimetic of superoxide dismutase) and indomethacin (non-selective inhibitor of cyclooxygenase). In TOR and AMR aortic rings of young animals, the +PVAT reduced the contraction in relation to the -PVAT rings, however, in elderly animals, the +PVAT did not modify the contractile response in the aorta TOR and AMR. There was no difference in the contractile response of the ABD aorta in both groups. Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) in +PVAT increased the contractile response in TOR and ABD young and old animals. In AMR, +PVAT increased the response in young animals and reduced in elderly animals. However, there was no modification of the response in -PVAT rings in both groups. Incubation with MnTMPyP and indomethacin did not modify the response in the arteries of young animals, however, it reduced the response in the three arteries in the +PVAT of elderly animals, not modifying in -PVAT rings. Our results suggest that at 23 months of age, male Wistar rats present PVAT dysfunction, involving the NO route, oxidative imbalance and the participation of prostanoids derived from cyclooxygenase.

Keywords: PVAT; aging; aorta artery; AMR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	População global por faixa etária, 1990-2050. Adaptado de: United Nations (2019). World Population Ageing 2019: Highlights	15
Figura 2 –	Representação da parede arterial (Adaptado de ZHAO, VANHOUTTE, LEUNG, 2015)	19
Figura 3 –	Efeitos do envelhecimento na composição e estrutura das camadas vasculares (adaptado de: WHITLOCK; HUNDLEY, 2015)	20
Figura 4 –	Tecido adiposo perivascular (PVAT) da aorta torácica (A), abdominal (B) e artéria mesentérica de resistência (C) (Adaptado de: MIAO; LI, 2012)	27
Figura 5 –	Principais fontes geradores e neutralizantes das EROs (SANTOS-ROCHA, 2018)	33
Figura 6 –	Síntese e mecanismos de sinalização dos prostanóides	35
Figura 7 –	Esquema representativo da hipótese deste estudo	38
Figura 8 –	Esquema representativo de miógrafo para avaliação da reatividade vascular em aorta	41
Figura 9 –	Esquema representativo para avaliação da reatividade vascular em AMR	42
Figura 10 –	Esquema ilustrativo do protocolo de reatividade vascular em aorta (A) e em AMR (B)	44
Figura 11 –	Curvas concentração-resposta à fenilefrina e noradrenalina em aorta e AMR de ratos jovens	46
Figura 12 –	Curvas concentração-resposta à fenilefrina e noradrenalina em aorta e AMR de ratos idosos	47
Figura 13 –	Efeito da pré incubação com L-NAME sobre a contração vascular de aorta na +PVAT de ratos jovens e idosos	49
Figura 14 –	Efeito da pré incubação com L-NAME sobre a contração vascular de aorta na -PVAT de ratos jovens e idosos	50
Figura 15 –	Efeito da pré incubação com L-NAME sobre a contração vascular de AMR na +PVAT e -PVAT de ratos jovens e idosos	52
Figura 16 –	Efeito da pré incubação com MnTMPyP sobre a contração vascular de aorta e AMR de ratos jovens	54

Figura 17 –	Efeito da pré incubação com MnTMPyP sobre a contração vascular de aorta e AMR de ratos idosos	55
Figura 18 –	Efeito da pré incubação com indometacina sobre a contração vascular de ratos jovens	57
Figura 19 –	Efeito da pré incubação com indometacina sobre a contração vascular de aorta e AMR de ratos jovens	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidônico
ACh	Acetilcolina
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
AMR	Artéria mesentérica de resistência
Ang I	Angiotensina I
Ang II	Angiotensina II
AT ₁	Receptor para angiotensina 1
AT ₂	Receptor para angiotensina 2
BH4	Tetrahidrobiopterina
Ca ²⁺ -CAM	Cálcio-calmodulina
CMLV	Célula muscular lisa vascular
COX	Cicloxigenase
DAG	Diacylglicerol
DCVs	Doenças cardiovasculares
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
eNOS	Sintase do óxido nítrico endotelial
nNOS	Sintase do óxido nítrico neuronal
iNOS	Sintase do óxido nítrico induzível
EO	Estresse oxidativo
EROs	Espécie reativa de oxigênio
PLA ₂	Fosfolipase A ₂

PLC	Fosfolipase C
GCs	Guanilato ciclase solúvel
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
IK _{ATP}	Canal para o potássio sensível ao ATP
IK _{Ca}	Canal para o potássio sensível ao cálcio
IK _V	Canal para o potássio sensível a voltagem
IP ₃	1,4,5-trifosfato de inositol
LOX	Lipoxigenase
NADPH oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
PKA	Proteína quinase dependente de AMPc
PKG	Proteína quinase dependente de GMPc
PVAT	Tecido adiposo perivascular
+PVAT	Presença de PVAT
-PVAT	Ausência de PVAT
PGI ₂	Prostaciclina
SCV	Sistema cardiovascular
SRA	Sistema renina angiotensina
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TxA ₂	Tramboxano

LISTA DE SÍMBOLOS

mN/mm	Milínewton por milímetro
mmHg	Milímetros de mercurio
•NO	Óxido nítrico
O ₂ ⁻	Superóxido
•O ₂ ⁻	Ânion superóxido
•OH	Radical hidroxil
•ONOO ⁻	Peroxinitrito

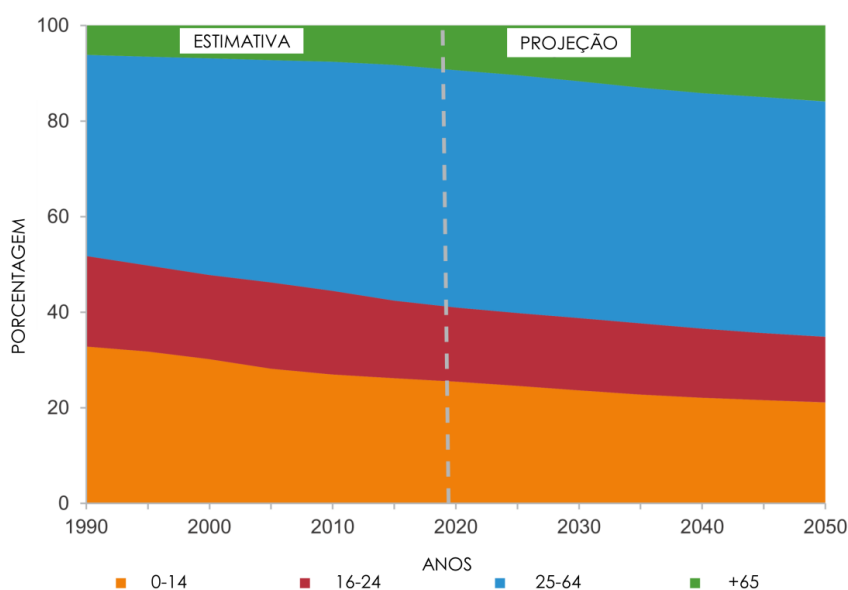
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	ENVELHECIMENTO	17
2.2	O SISTEMA VASCULAR E O ENVELHECIMENTO	19
2.2.1	Tecido adiposo perivascular	23
2.2.1.1	<i>Fatores derivados do PVAT: O óxido nítrico, as espécies reativas de oxigênio e prostanóides</i>	30
	- Óxido nítrico	30
	- Espécies reativas de oxigênio	32
	- Prostanóides	34
3	OBJETIVOS	39
3.1	OBJETIVO GERAL	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	ANIMAIS	40
4.2	Estudos de reatividade vascular em anéis de aorta e AMR	40
	- Aorta torácica e abdominal	40
	- Artéria mesentérica de resistência	41
	- Protocolos experimentais	42
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS	45
5.1	EFEITO DO PVAT SOBRE A RESPOSTA VASCULAR CONTRÁTIL DE AORTA E ARTÉRIA MESENTÉRICA DE RESISTÊNCIA	45
5.2	PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO SOBRE OS EFEITOS VASCULARES EXERCIDOS PELO PVAT EM ARTÉRIAS DE RATOS JOVENS E IDOSOS	48
5.3	EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE A PRODUÇÃO DE EROS DERIVADA DO PVAT	53
5.4	EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE A SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS DERIVADAS DO PVAT	56
6	DISCUSSÃO	60
7	CONCLUSÃO	66

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, indicadores do envelhecimento populacional tem mostrado uma mudança no processo demográfico mundial, caracterizada por um maior crescimento da população com 60 anos ou mais em comparação aos demais grupos etários. Em 1990, indivíduos em idade ativa, 25-64 anos, constituía a maior parcela da população (42%), seguido por crianças de 0-14 anos (33%), jovens de 15-24 anos (19%) e por último, idosos com 60 anos ou mais (6%). No entanto, as estimativas atuais indicam que em 2050 ocorra uma queda no número de crianças e jovens (21% e 14%, respectivamente) e um aumento no número de idosos (16%) (Figura 1), presumindo que a proporção seja de um idoso para cada seis pessoas (United Nations, 2019).

Figura 1. População global por faixa etária, 1990-2050.



Fonte: Adaptado de (World Population Ageing 2019: Highlights)

O envelhecimento é um processo de declínio funcional relacionado ao tempo que compromete a eficácia dos mecanismos envolvidos na manutenção da homeostase, contribuindo para o desenvolvimento de doenças crônicas e para a redução da qualidade de vida (CERMAN; ERASLAN; CEKIC, 2015; JAROUDI et al, 2017; MACNEE, 2016; GLASSOCK; RULE, 2016). Embora o envelhecer não seja sinônimo de doença, o avanço da idade *per se* é o principal fator de risco para a gênese de várias comorbidades, em

particular as doenças cardiovasculares (DCVs), que representam a principal causa de morte nesta parcela da população (TIMIRAS, 2007; CUTLER; MATTSON, 2006). Durante o envelhecimento, o sistema cardiovascular (SCV) é acometido por alterações moleculares, funcionais e estruturais que resultam em doenças como, hipertensão arterial, aterosclerose e miocardiopatias (PANENI, 2017; LAKATTA; LEVI, 2003). Além disso, o envelhecimento também cursa com alterações do tecido adiposo, caracterizadas por aumento do seu volume, deposição em locais não convencionais, estresse oxidativo (EO) e inflamação (KYLE et al., 2001; TCHKONIA et al., 2010; KUK et al., 2009; SCHOSSERER, 2018; DONATO et al., 2014; FRANCESCHI et al., 2000; MANCUSO; BOUCHARD, 2019). Tais modificações são correlacionadas ao desenvolvimento de algumas doenças associadas à idade.

Em 1991, Soltis & Cassis demonstraram que o depósito de tecido adiposo que circunda os vasos sanguíneos, denominado de tecido adiposo perivascular (PVAT), era capaz de atenuar a contração à noradrenalina (NA) em anéis de aorta isolados de ratos, sugerindo um possível papel fisiológico do PVAT no controle do tônus vascular. Vários estudos se sucederam a esse achado e atualmente se sabe que o PVAT é um regulador da homeostase vascular, exercendo efeito anticontrátil através da produção e liberação de fatores que atuam tanto nas células endoteliais, como nas células musculares lisas vasculares (CMLV). Além disso, alguns estudos têm revelado que alterações funcionais e fenotípicas do PVAT estão associadas às complicações vasculares decorrentes da obesidade (POLICE et al., 2009; BRIONES et al., 2012; BUSSEY et al., 2016), hipertensão arterial (GÁLVEZ et al., 2006a; LEE et al., 2009a;), infecção sistêmica (MADJID et al., 2007), injúria vascular (TAKAOKA et al., 2010) e aterosclerose (HENRICHOT et al., 2005; LOHMANN et al., 2009), com perda ou redução da sua função anticontrátil.

Como um reflexo do envelhecimento populacional, a busca pela compreensão das alterações vasculares decorrentes do avanço da idade tem ganhado ainda mais força nas últimas décadas. Entretanto, estudos que referenciam os efeitos do envelhecimento sobre o PVAT e suas ações na função vascular são limitados (FANG et al., 2009; KONG et al., 2018). Neste sentido, compreender os mecanismos pelos quais o envelhecimento modifica o PVAT em artérias de condutância e resistência poderiam ser úteis para a prevenção e/ou redução do risco de doenças vasculares em idosos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ENVELHECIMENTO

O envelhecimento é um processo natural, universal, inevitável, irreversível, cumulativo, multifatorial e não patológico de declínio da capacidade fisiológica, que ocorre em nível molecular, celular e tecidual, conduzindo à perda progressiva da capacidade física e mental, ao risco crescente de doenças e, em última instância, à morte (ALMEIDA; RIBEIRO; MEDEIROS, 2017; WHO, 2002; WHO, 2018). Contudo, apesar de sua universalidade, o envelhecimento apresenta uma grande variabilidade, envolvendo diferentes formas e ritmos, os quais estão relacionados às características ambientais, culturais e genéticas, bem como, à presença e/ou ausência de doenças associadas (TAMER; PETRIZ, 2007). Portanto, o envelhecer é uma realidade heterogênea, com experiências e trajetórias individuais que compõem o conjunto da longevidade de cada indivíduo.

Dados da Organização Pan-Americana de Saúde (2018) revelam que o número de pessoas idosas vem aumentando consideravelmente em todo o mundo. Em 2050, espera-se que a população de idosos com 60 anos ou mais alcance os 2 bilhões, em contraste aos 900 milhões em 2015. Embora o envelhecimento esteja ocorrendo em todas as regiões do planeta, países em desenvolvimento, como o Brasil, estão experimentando essas mudanças em um nível maior (Fundo de População das Nações Unidas, 2012). Maior país da América Latina e com a sexta maior população do mundo, o Brasil está passando por um dos mais rápidos processos de envelhecimento demográfico do mundo, uma tendência que será ainda mais acelerada no presente século (DE SOUZA BRAGA et al., 2016; LIMA-COSTA et al., 2018). Segundo a legislação brasileira e o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) é considerado (a) idoso (a) as pessoas com idade igual ou superior a 60 anos. Em 2004, este grupo representava 9,7% da população; em 2014 esse número subiu para 13,7%; a estimativa é que alcance 18,6% em 2030 e 33,7% em 2060. Atualmente, o país ocupa a sexta posição no ranking mundial de idosos (Population Reference Bureau, 2020). Diante disso, o envelhecimento da população brasileira é um fenômeno que não pode ser ignorado.

Durante a maior parte de sua história, o Brasil foi considerado “um país jovem”. No entanto, em 1987, um artigo publicado por Veras e colaboradores (Envelhecimento: Uma realidade brasileira) apresentava tendências de mortalidade, fertilidade e expectativa de vida do início do século XX ao XXI, mostrando que o país passaria por um processo de envelhecimento comparável ao de países desenvolvidos (VERAS; RAMOS; KALACHE, 1987). No ano seguinte, em 1988, o envelhecimento da população brasileira foi incluído na Agenda de Pesquisas da Associação Brasileira de Estudos Populacionais (ABEP); essa agenda reúne vários pesquisadores e promove o intercâmbio científico e análise de tendências demográficas nacionais (BEZERRA; ALMEIDA; NOBREGA-THERRIEN, 2012). Dentre os principais estudos encontram-se: o projeto Epidemiologia do Idoso II (EPIDOSO II), o Estudo Longitudinal de Saúde e Bem-Estar dos Idosos Brasileiros (ELSI-Brasil), o Fibra 80+: Fragilidade nos Idosos Brasileiros, dentre outros (TRAMUJAS VASCONCELLOS NEUMANN; ALBERT, 2018). Desde então, o número de pesquisas e publicações sobre o envelhecimento tem aumentado exponencialmente.

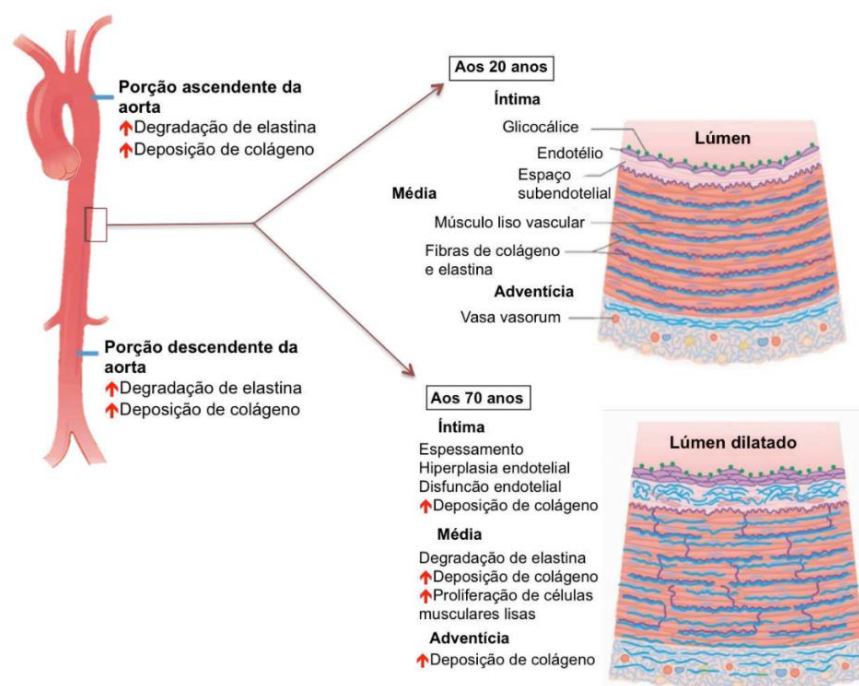
Estudos sobre os aspectos moleculares têm fornecido contribuições relevantes para o entendimento dos mecanismos fisiológicos associados ao envelhecimento (DAVALLI et al., 2016; KHAN; SINGER; VAUGHAN, 2017; WAGNER et al., 2016). Neste contexto, López-Otín et al. (2013) descreveram características celulares e moleculares do envelhecimento, envolvendo senescência celular, instabilidade genômica, encurtamento de telômeros, autofagia desregulada, EO, disfunção mitocondrial, inflamação sistêmica e disfunção do metabolismo. Estes, de modo independente ou integrados, levam ao desenvolvimento de doenças relacionada ao envelhecimento, como o Alzheimer (CERMAN; ERASLAN; CEKIC, 2015; JAROUDI et al, 2017), a doença pulmonar obstrutiva crônica (MACNEE, 2016), as doenças renais (GLASSOCK, RULE, 2016), as desordens metabólicas (MORLEY, 2004; SPANN; OTTINGER, 2018) e as DCVs, sendo estas últimas a principal causa de mortalidade da população idosa (CHIAO; RABINOVITCH, 2015). No entanto, na maioria das abordagens terapêuticas, o envelhecimento tem sido tradicionalmente negligenciado como um fator de risco não modificável e ignorado, um aspecto que tem mudado mais recentemente devido à importância dada à biologia básica do processo de envelhecimento (HODES et al., 2016). Assim, a crescente população idosa destaca a importância de compreender e/ou elucidar os mecanismos do envelhecimento a fim de identificar novos alvos moleculares e

desenvolver novas estratégias para enfrentar esse processo com maior qualidade de vida possível.

2.2 O SISTEMA VASCULAR E O ENVELHECIMENTO

O sistema vascular é uma rede de vasos que conecta o coração aos diversos órgãos, regulando a distribuição e entrega de substâncias essenciais aos tecidos e removendo produtos de excreção, preservando um ambiente apropriado para as condições ótimas de sobrevivência das células. O processo de envelhecimento está associado com alterações estruturais e funcionais complexas da vasculatura, independentemente de outros fatores de risco, como a pressão arterial elevada, a hiperglicemia ou as dislipidemias. Este processo promove diversas modificações na parede vascular, como rigidez arterial, diminuição do lúmen vascular e espessamento das camadas íntima e média. Assim, com o avanço da idade, a artéria aorta e a árvore arterial sofrem redução da complacência, distensibilidade e dilatação, como consequência da calcificação vascular, especialmente na camada média das grandes artérias, e estes fatores geram a necessidade de aumento da pressão arterial sistólica e de pulso, o que atribui para o aumento da pós-carga (Figura 2) (BORTOLOTTTO et al.,1999; LAKATTA; LEVY, 2003; O'ROURKE; HASHIMOTO, 2007; BLACHER et al., 1999).

Figura 2. Efeitos do envelhecimento na composição e estrutura das camadas vasculares.

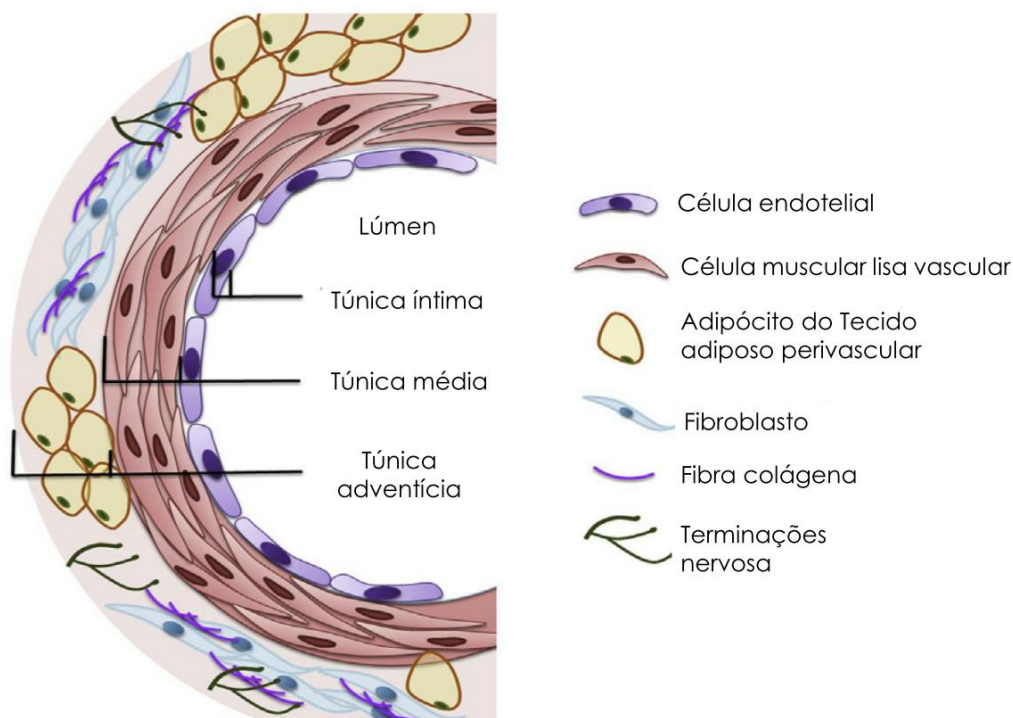


Fonte: adaptado de (WHITLOCK; HUNDLEY, 2015).

A parede arterial é uma estrutura heterogênea composta de três camadas ou túnicas (Figura 3): a túnica íntima (camada mais interna), a túnica média (camada intermediária) e a túnica adventícia (camada mais externa) (OPIE, 1998). Cada camada exhibe características histológicas, bioquímicas e funcionais específicas e, como tal, contribuem de maneira única para manter e regular a homeostase vascular (MARTINEZ-LEMUS, 2012).

A túnica íntima é formada pelo endotélio, lâmina basal e lâmina elástica interna. O endotélio, a monocamada de células epiteliais que reveste o interior do vaso, além da função de barreira entre os elementos sanguíneos e as demais estruturas do vaso, atua como um órgão endócrino, produzindo e liberando fatores vasoativos capazes de modificar o crescimento, migração e morte das CMLV, a hemodinâmica, o tônus vascular, a fluidez sanguínea, dentre outras funções (COLAÇO et al., 2016).

Figura 3. Representação da parede arterial.



Fonte: Adaptado de (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG, 2015)

A túnica média é formada pelas CMLV e por uma matriz extracelular composta de elastina, colágeno (sobretudo os colágenos do tipo I, III e IV) e proteoglicanos. Ela é delimitada da túnica íntima pela lâmina elástica interna e da túnica adventícia pela lâmina elástica externa. As CMLV estão dispostas perpendicularmente ao eixo longitudinal do vaso de maneira circunferencial, controlando o diâmetro vascular através de fatores que as alcançam através de sua difusão entre os componentes da parede arterial (RHODIN, 2011).

Por último, a túnica adventícia é a camada mais externa e heterogênea da parede arterial. Ela é formada por duas subcamadas, a mais interna denominada de adventícia compacta, formada por fibroblastos e a mais externa denominada de adventícia “*fat*”, composta pelo PVAT. Na constituição da adventícia se somam ainda outros grupos celulares e estruturas como: miofibroblastos, linfócitos, macrófagos, colágeno, terminações nervosas perivasculares e *vasa vasorum* (BURTON, 1954; HIRST; EDWARDS, 1989; MIAO; LI, 2012).

Diversos estudos tem relatado que o envelhecimento induz o desenvolvimento progressivo da disfunção endotelial em vasos de animais e de humanos (RODRÍGUEZ-MAÑAS et al., 2009; TODA, 2012; MATZ; ANDRIANTSITOHAINA, 2003; BRANDES; FLEMING, 2005; MOREIRA et al., 2018). Essa disfunção é um mecanismo importante na gênese das DCVs, estando relacionada com alterações da morfologia e função das células endoteliais, perda ou redução da capacidade vasodilatadora e antitrombótica devido a menor produção de fatores vasodilatadores, como o óxido nítrico ($\bullet$ NO) e aumento da síntese de fatores vasoconstritores (DONATO et al., 2009; VAN GUILDER et al., 2007; HEYMES et al., 2000; TANG; VANHOUTTE, 2008), rompendo a homeostase arterial e favorecendo a ativação de vias pró-oxidativas e pró-inflamatórias (EL ASSAR; RODRÍGUEZ-MAÑAS, 2013). Estes eventos precedem a doença clínica e aumentam o risco de desenvolvimento clínico de aterosclerose, hipertensão e acidente vascular cerebral na população idosa.

O aumento da rigidez arterial é precedido por vasodilatação prejudicada, sugerindo que essa alteração pode estar ligada à disfunção endotelial (SCUTERI et al., 2008). A rigidez vascular elevada é resultado das alterações morfológicas e da composição da matriz extracelular, como a redução e fragmentação de fibras elásticas, transferindo a carga mecânica do vaso para o colágeno, que tem aumento de sua deposição relacionadas

à idade (ZIEMAN; MELENOVSKY; KASS, 2005; FRITZE et al., 2012). A redução da elastina é resultado do aumento da atividade de proteases com atividade elastinolítica, incluindo certas metaloproteinases (MMPs) e cisteinil catepsinas, cujas atividades podem ser moduladas por mediadores inflamatórios (LIU et al., 2004; LI et al., 1999). Associada a essa perda de elasticidade e aumento da rigidez, há o comprometimento da adaptação vascular às variações de fluxo e de pressão. O enrijecimento arterial tem dois efeitos principais sobre a circulação e sobre a interação entre o ventrículo esquerdo e a aorta. Primeiro, a ejeção de sangue pelo ventrículo esquerdo gera uma onda de pressão de maior amplitude na aorta do que no ventrículo (aumento da pressão de pulso). Segundo, o aumento da rigidez arterial causa aumento na velocidade de propagação da onda de pulso pela aorta e grandes artérias. Isso aumenta as pressões aórtica e ventricular esquerda, aumenta o consumo de oxigênio pelo miocárdio e promove hipertrofia ventricular esquerda (EL ASSAR; RODRÍGUEZ-MAÑAS, 2013; PANENI et al., 2017). O aumento da pressão de pulso e da velocidade da onda de pulso é considerado uma medida indireta da rigidez arterial e um fator preditivo independente de doença arterial coronariana no Estudo de Framingham.

Assim, o acúmulo de alterações estruturais, funcionais e moleculares adquiridos ao longo do tempo, como parte do envelhecimento intrínseco e independente de outros fatores, tornam-se “parceiras” no desenvolvimento de doenças associadas à idade. (LAKATTA; LEVY, 2003; WANG; BENNETT, 2012; TESAURO et al., 2017). Além disso, o envelhecimento vascular, anteriormente considerado um fator de risco não modificável, agora é visto como um processo alvo de intervenção, a fim de alcançar uma velhice mais saudável (VAN DER LOO et al., 2009).

O entendimento da função vascular, sobretudo da vasomotricidade, evoluiu drasticamente ao longo do tempo. A visão primitiva de um sistema vascular regulado exclusivamente por hormônios circulantes e inervação simpática deu espaço para a concepção de uma regulação local, realizada sobretudo pela célula endotelial, negligenciando as demais células presente na parede vascular, e em particular, as células que formam a túnica adventícia, um erro, tendo em vista que esta camada é estruturalmente o compartimento mais complexo e heterogêneo da parede arterial (NAVA; LLORENS, 2019; STENMARK et al., 2013).

Estudos pioneiros envolvendo a contribuição da túnica adventícia para a função arterial mostraram que em condições de pressões extremamente elevada ela se torna um componente predominantemente ativo da parede vascular devido a seu elevado conteúdo de colágeno, prevenindo a ruptura dos vasos (BURTON, 1954; SILVER; HORVATH; FORAN, 2001). Posteriormente, evidências sustentaram a hipótese de que a túnica adventícia também atua como um centro de integração, armazenamento e liberação de fatores reguladores da função vascular (SARTORE et al., 2001; SILVER; HORVATH; FORAN, 2001; STENMARK et al., 2006). Desta forma, a túnica adventícia é capaz de interferir tanto na estrutura quanto na função dos vasos.

Atualmente, a adventícia é capaz de detectar e direcionar respostas a uma gama de estímulos por meio da comunicação recíproca com outras células adventícias e/ou por células dos tecidos vizinhos. De fato, a adventícia pode atuar como o principal “tecido sensível à lesão” da parede do vaso (SCHULZE-BAUER; REGITNIG; HOLZAPFEL, 2002; STENMARK, 2013), onde em resposta a estresses hormonais, inflamatórios e ambientais, como hipóxia/isquemia ou distensão vascular, as células adventícias residentes (fibroblastos, células imunes e progenitoras) são frequentemente as primeiras a exibirem evidências de “ativação”, elevando seus números no tecido, regulando a expressão de proteínas contráteis, matriz extracelular e de adesão, bem como secretando quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento (STENMARK, 2013).

Além destas, outras células periadiventriciais, os adipócitos, que em conjunto formam o PVAT, vem ganhando espaço como um regulador da função vascular e tem sido integrado aos estudos como um componente estrutural e funcional da maioria dos vasos sanguíneos. Nesse contexto, novos papéis têm sido atribuídos ao PVAT e às demais células da adventícia como fonte de substâncias vasoativas que modulam o tônus vascular “de fora para dentro”, em alusão ao endotélio que o modula “de dentro para fora” (NAVA; LLORENS, 2019).

2.2.1 Tecido adiposo perivascular

A visão tradicional que considera o tecido adiposo como um simples reservatório energético não é mais aceita e seu reconhecimento como órgão endócrino tem sido cada vez mais aceito. Atualmente, sabe-se que além de participar do controle energético,

através do metabolismo lipídico e glicídico, libera fatores que modulam a resposta imunológica, a homeostase vascular, a angiogênese, a fibrinólise, a regulação hormonal, dentre outras funções (PRINS, 2002; GRANT; DIXIT, 2015; ADAMCZAK; WIECEK, 2013; MOHAMED-ALI; PINKNEY; COPPACK, 1998).

Estudos pioneiros que envolvem a produção de substâncias por parte dos adipócitos tiveram início em 1987 com Cook e colaboradores que identificaram a adiposina, também conhecida como fator D do sistema complemento, uma adipocina que faz parte da cascata imunoinflamatória da via alternativa. Em 1993, Hotamisligil e colaboradores observaram a expressão de uma citocina pró-inflamatória, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), em adipócitos de quatro modelos diferentes de camundongos obesos. Subsequentemente, em 1994, Zhang e seus colaboradores, identificaram e caracterizaram o produto do gene *ob*, a leptina, instituindo o tecido adiposo como um órgão endócrino. Desde então, fatores derivados dos adipócitos têm sido identificados e sua importância sendo descrita na regulação das funções neuroendócrinas, autonômicas, imunológicas e cardiovasculares (AHIMA; FLIER, 2000; KERSHAW; FLIER, 2004; GRANT; DIXIT, 2015).

Estruturalmente, além de adipócitos e pré-adipócitos, o tecido adiposo apresenta outros grupos celulares, incluindo: célula endotelial, fibroblastos, células do sistema imunológico (linfócitos e macrófagos) e componente da matriz extracelular, como as fibras colágenas, que em conjunto, contribuem para a manutenção de sua homeostase e função (OUCHI et al., 2011). Microscopicamente, existem três tipos de adipócitos, o branco, o marrom e o bege, onde a quantidade relativa dessas células presente em um depósito específico definem a cor do tecido adiposo, nesse sentido, macroscopicamente, dois tipos de tecido adiposo podem ser encontrados em mamíferos, o tecido adiposo branco (TAB) e o tecido adiposo marrom (TAM). Estes possuem características morfológicas e funções distintas e consequentemente diferem em seus padrões de expressão (PFEIFER; HOFFMANN, 2015)

O TAB é o tipo mais abundante em humanos sendo encontrado em múltiplas regiões anatômicas, mas, em dois principais depósitos, o subcutâneo e o visceral, este último, compreendendo as áreas retroperitoneal, omental e mesentérica. Além destes, depósitos menores são encontrados margeando o coração e os rins (BLOOR; SYMONDS, 2014). O TAB possui tecido conectivo frouxo com poucos vasos sanguíneos, poucas mitocôndrias e funções de amortecimento, isolamento e estoque lipídico (IKEOKA;

MADER; PIEBER, 2010). Ademais, os adipócitos brancos podem alterar seu volume e diâmetro a depender da quantidade de triacilglicerol estocado, podendo atingir de 90-100µm de diâmetro; armazenam lipídio em uma gotícula única, que ocupa cerca de 85-90% do citoplasma, deslocando seu núcleo para a periferia (FONSECA et al., 2006).

Em condições fisiológicas, na mesma proporção que adipócitos maduros sofrem apoptose, os pré-adipócitos são recrutados a se diferenciarem, dessa forma, o número de adipócitos tende a permanecer constante no tecido adiposo (ARNER et al., 2010; WALKER et al., 2014). Contudo, em condições fisiopatológicas, como na obesidade, a massa do TAB se expande aumentando o tamanho (hipertrofia) e o número de adipócitos (hiperplasia), sendo essa expansão excessiva acompanhada por alterações estruturais e celulares, incluindo fibrose, EO, infiltração de células imunológicas, inflamação local e síntese desequilibrada de diversas substâncias bioativas em humanos e em roedores (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; BLOOR; SYMONDS, 2014; BUSSEY et al., 2016).

O TAM foi observado pela primeira vez na área interescapular de marmotas por Gesner em 1551, no entanto, apenas em 1961 o tecido foi identificado e seu poder metabólico começou a ser descrito (SMITH; HORWITZ, 1996). O TAM é encontrado particularmente em mamíferos, recém-nascidos e adultos, estando localizado em áreas cervicais e supra claviculares. Sua característica marcante é a produção de calor sem tremores (termogênese adaptativa) produzido através da UCP-1 (*uncoupling Protein 1*), uma proteína mitocondrial transmembrana, por meio da estimulação simpática via receptor β_3 -adrenérgico ou por intermédio de homônimos endócrinos, como o peptídeo natriurético atrial e a secretina (NICHOLLS; DAVID; LOCKE, 1984; CANNON; NEDERGAARD, 2012; BORDICCHIA et al., 2012; LI et al., 2018). Diferentemente do TAB, o TAM é altamente vascularizado, multilocular (apresenta diversas vesículas lipídicas de tamanhos variados) e possui um elevado conteúdo de mitocôndrias.

A maioria dos vasos sanguíneos com diâmetro igual ou superior a 100µm, exceto capilares, vasos pulmonares e os vasos da circulação cerebral – artéria média, basilar e círculo de Willis, são circundados por quantidades variáveis de tecido adiposo (MEIJER et al., 2011; GAO, 2007). Morfologicamente, não existe nenhuma lâmina, fáscia ou barreira celular que o separe da túnica adventícia (RAJSHEKER et al., 2010) assim, substâncias produzidas por esses adipócitos se difundem através da parede do vaso e

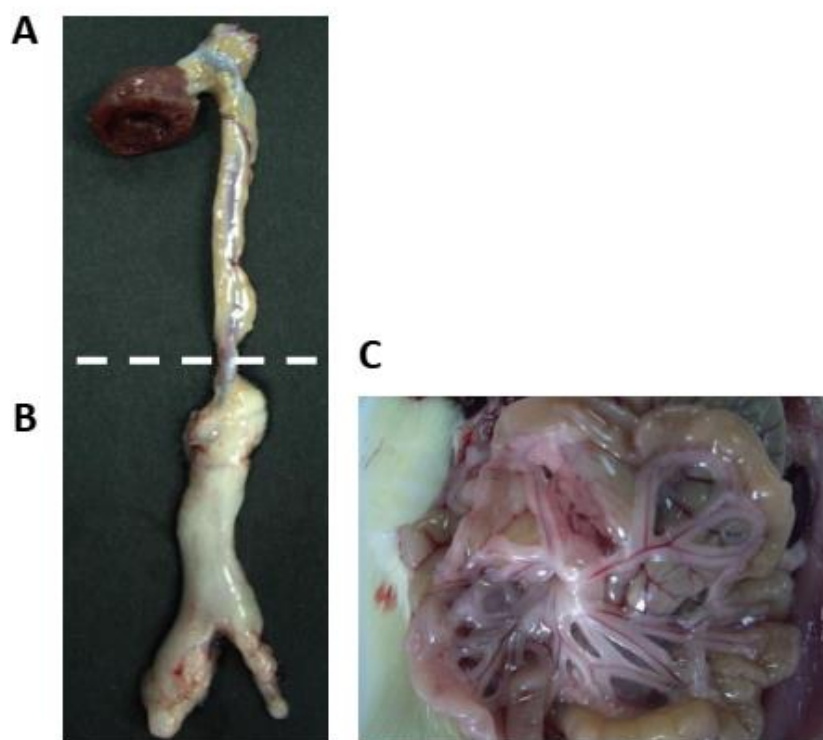
atuam sobre as CMLV e o endotélio (GAO et al., 2007; HUANG et al., 2010; ERINGA; BAKKER; VAN HINSBERGH, 2012; RAMIREZ; O'MALLEY; HO, 2017) modulando não apenas o tônus vascular (MAENHAUT; VAN DE VOORDE, 2011), mas também a termorregulação intravascular (CHANG et al., 2012), a inflamação (CHATTERJEE et al., 2013), a migração e proliferação de CMLV (MIAO; LI, 2012; OZEN et al., 2015), a hiperplasia da camada íntima (TAKAOKA et al., 2010; SCHROETER et al., 2013) e o desenvolvimento da aterosclerose (GREIF et al., 2009; CHANG et al., 2012; GÓMEZ-HERNÁNDEZ et al., 2016).

Estruturalmente o PVAT apresenta os mesmos grupos celulares dos demais depósitos de tecido adiposo do corpo (BROWN et al., 2014), porém, o próprio PVAT exibe características intrínsecas que o difere ao longo da árvore vascular, como: aspectos morfológicas (tipo e tamanho do adipócito), quantidade, tipos celulares, capacidade de diferenciação, produção de componentes inflamatórios e expressão de componentes do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008; PADILLA et al., 2013; CHATTERJEE et al., 2009; GAO, 2007). Na aorta torácica, os adipócitos que compõe o PVAT são predominantemente marrons possuindo características morfológicas, genéticas e proteômicas semelhantes ao tecido adiposo interescapular, como: adipócitos multiloculares, ampla vascularização, elevada expressão de UCP-1 e grande quantidade de mitocôndrias que também produzem calor em resposta a estímulos, como a exposição ao frio, tal propriedade tem função antiaterogênica (BROWN et al., 2014; CHANG et al., 2012; FITZGIBBONS et al., 2011). Em contrapartida, o PVAT da aorta abdominal, artéria femoral, artéria coronariana e do leito mesentérico possuem características que se assemelham ao TAB, apresentando adipócitos uniloculares, baixo conteúdo mitocondrial e pouca vascularização (Figura 4) (GUZIK et al., 2007; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012; BROWN et al., 2014).

Apesar dos adipócitos da aorta torácica exibirem as mesmas características do TAM, não expressam a proteína ZIC-1 (o marcador de célula progenitora do TAM) sustentando que o PVAT torácico e a gordura interescapular não possuem a mesma origem embrionária (CONTRERAS et al., 2016). Estudos mais recentes mostram que os adipócitos do PVAT torácicos são derivados de várias linhagens celulares, os quais podem exercer papéis diferentes na regulação da função da aorta (YE et al., 2019). No entanto, o PVAT da aorta abdominal e das artérias do leito mesentérico expressam o produto do gene Tcf21, um marcador para o TAB. Contudo, devido ao menor tamanho

de seus adipócitos, o PVAT das artérias do leito mesentérico tem hipertrofia limitada, podendo ser mais susceptível à resposta inflamatória em relação aos demais depósitos de TAB (CONTRERAS et al., 2016; VICTORIO et al., 2016). Nesse sentido, considerando as características supracitadas, os conhecimentos adquiridos sobre depósitos específicos de tecido adiposo do corpo não podem ser generalizados para os demais, e em particular os perivascularres.

Figura 4. Tecido adiposo perivascular (PVAT) da aorta torácica (A), abdominal (B) e leito mesentérico (C) de rato.



Fonte: Adaptado de (MIAO; LI, 2012)

Na prática, a avaliação da função arterial *ex vivo*, foi rotineiramente conduzida na - PVAT, uma vez que o mesmo, era comparado ao tecido conjuntivo, fornecendo apenas suporte mecânico ao vaso. No entanto, não é a melhor abordagem a ser realizada, uma vez que alguns territórios vasculares são circundados por esse tecido e o mesmo traz grande impacto no comportamento funcional dos vasos (AGABITI-ROSEI et al., 2018).

Em meados da década de 1990, Soltis & Cassis iniciaram os estudos funcionais de vasos isolados sob influência do PVAT. Seus resultados demonstraram que na +PVAT havia uma redução significativa na resposta contrátil à NA em aorta torácica de ratos Sprague-Dawley, quando comparada às artérias -PVAT, sugerindo um possível papel fisiológico do PVAT no controle do tônus vascular (SOLTIS; CASSIS, 1991). No entanto, em princípio este papel do PVAT foi colocado em dúvida. Nos primeiros relatos, acreditava-se que o PVAT prejudicava a difusão dos agentes farmacológicos e promovia redução da resposta contrátil por reter o agente farmacológico (SZASZ; WEBB, 2012). Entretanto, estudos posteriores utilizando agentes de baixa lipossolubilidade, mostrou que nas artérias +PVAT a resposta contrátil continuava reduzida, contestando a teoria inicial (GOLLASCH; DUBROVSKA, 2004).

Em 2002, Löhn e colaboradores constataram que o PVAT que circunda a aorta, era capaz de regular o tônus vascular através da liberação de fatores anti-contráteis, os quais foram inicialmente denominados de fatores relaxantes derivados da adventícia e que posteriormente foi substituído pelo termo fatores relaxantes derivados do PVAT (*PVAT-Derived Relaxing Factors* – PVRFs). Constatou-se ainda nesse estudo que a liberação do PVRF era dependente da presença de cálcio (Ca^{2+}) e regulado por vias de sinalização envolvendo a tirosina quinase e os canais para o potássio (K^+). Além deste, outro estudo que merece destaque foi publicado por Verlohren e colaboradores em 2004; nele os autores demonstraram que em artérias mesentéricas de resistência (AMR) de ratos, o efeito anti-contrátil do PVAT se dá principalmente por hiperpolarização das CMLV (VERLOHREN et al., 2004). Em conjunto, esses dados indicaram que o PVAT é bem mais que uma estrutura de suporte vascular e desempenha um papel na regulação do tônus de pequenas e grandes artérias.

Desde então, diversos estudos vêm confirmando a ação anti-contrátil do PVAT em vasos de condutância e de resistência, tais como: aorta torácica de ratos (SOLTIS; CASSIS, 1991; LÖHN et al., 2002; GOLLASCH; DUBROVSKA, 2004; GAO et al., 2007; ZENG et al., 2009; LU et al., 2011a; SUN et al., 2013; ARAUJO et al., 2015; VICTORIO et al., 2016a; 2016b; DEVALLANCE et al., 2018; DEVALLANCE et al., 2019), aorta de camundongos (MAENHAUT; BOYDENS; VAN DE VOORDE, 2010; BOYDENS; PAUWELS; VAN DE VOORDE, 2016; XIA et al., 2016; NÓBREGA et al., 2019), aorta torácica interna humana (GAO et al., 2005; MALINOWSKI et al., 2008; MALINOWSKI et al., 2013; KOCISZEWSKA et al., 2015), artéria mamária interna

humana (ARCHER et al., 2003; OZEN et al., 2013), artéria coronária de porco (REIFENBERGER et al., 2007), AMR de ratos (VERLOHREN et al., 2004; GÁLVEZ et al., 2006; ROSEI et al., 2015; BUSSEY et al., 2016; BUSSEY et al., 2018; SAXTON et al., 2019), AMR de camundongos (MARCHESI et al., 2009; AYALA-LOPEZ; THOMPSON; WATTS, 2017; SAXTON et al., 2018; HART et al., 2020), veia cava inferior de rato (LU et al., 2011b) e veia humana (DASHWOOD et al., 2007; OZEN et al., 2013). No entanto, o efeito anti-contrátil do PVAT não foi observado em aorta abdominal de ratos (VICTORIO et al., 2016b).

Atualmente, sabe-se que em condições fisiológicas o PVAT modula negativamente a resposta contrátil a diversos agentes, por liberar diversos fatores vasoativos que exercem suas ações por diferentes mecanismos. No entanto, a síntese e liberação dos fatores podem variar de acordo com as características do PVAT, presença e/ou ausência de inervação e território vascular no qual está inserido (BULLOCH; DALY, 2014; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008; SZASZ; WEBB, 2012; PADILLA et al., 2013). Dentre as substâncias anti-contráteis já descritas destacam-se: a adiponectina (FÉSÜS et al., 2007; LYNCH et al., 2013; NACCI et al., 2016; ALMABROUK et al., 2017; BADRAN et al., 2019), o •NO (GIL-ORTEGA et al., 2010; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; XIA et al., 2016; BUSSEY et al., 2018; NÓBREGA et al., 2019; BARP; BENEDET, 2020), o sulfeto de hidrogênio (H₂S) (FANG et al., 2009; SCHLEIFENBAUM et al., 2010; KÖHN et al., 2012; BELTOWSKI et al., 2015; DONOVAN et al., 2018; CACANYIOVA et al., 2019) o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (GAO et al., 2007; COSTA et al., 2016; GONZAGA et al., 2018; NÓBREGA et al., 2019), o palmitato de metila (LEE et al., 2011a; CHANG et al., 2020), a angiotensina 1-7 (LEE et al., 2009a; LEE et al., 2011b), a adenosina (KONG et al., 2018) e a prostaciclina (PGI₂) (CHANG et al., 2012; MENDIZÁBAL et al., 2013).

O efeito anti-contrátil promovido pelos fatores acima citados podem ser conduzidos por mecanismos dependente de concentrações de Ca²⁺ extracelular, dos canais para o K⁺ sensíveis ao Ca²⁺, à voltagem, ao ATP (IK_{Ca}, IK_V, IK_{ATP}, respectivamente) e ainda por meio dos receptores β₃-adrenérgicos (BUSSEY et al., 2018; GAO et al., 2005; GOLLASCH; DUBROVSKA, 2004; LÖHN et al., 2002). Além disso, as vias de sinalização envolvidas nessas respostas podem ser de maneira dependente e/ou independente do endotélio (LEE et al., 2009; GAO et al., 2007; GAO et al., 2005). Tais diferenças podem ser promovidas pelo tipo de PVAT que reveste o vaso sanguíneo e o tipo de inervação perivascular, dentre as quais ajudam a explicar as variações locais nas

características funcionais do PVAT (PADILLA et al., 2013; SZASZ et al., 2012; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008).

Fatores vasoconstritores derivados do PVAT também foram descritos (RAMIREZ; O'MALLEY; HO, 2017), a saber: catecolaminas (SOLTIS; CASSIS, 1991; AYALA-LOPEZ et al., 2014), prostaglandina E_2 (PGE_2) (OZEN et al., 2013; MENDIZÁBAL et al., 2013; LEE et al., 2017; AWATA et al., 2019), tromboxano A_2 (TxA_2) (MEYER et al., 2013; MENDIZÁBAL et al., 2013), angiotensina II (LEE et al., 2009b; LU et al., 2010; HUANG et al., 2010), ânion superóxido ($\bullet O_2^-$) (GAO et al., 2006; MARCHESI et al., 2009; FLEENOR et al., 2014; DA COSTA et al., 2017; DEVALLANCE et al., 2018) e endotelina-1 (VIRDIS et al., 2015). Portanto, o PVAT pode desempenhar um papel como modulador duplo do tônus vascular. No entanto, a presença de outros grupos celulares neste tecido pode servir como uma fonte adicional dessas moléculas, se somando ao cenário complexo de propriedades anti-contráteis *versus* propriedades pró-contráteis.

2.2.1.1 Fatores derivados do PVAT: O óxido nítrico, as espécies reativas de oxigênio (EROs) e os prostanóides

- Óxido nítrico

O $\bullet NO$ é o principal mediador do relaxamento vascular dependente do endotélio. Ele é sintetizado a partir das isoformas da óxido nítrico sintase (NOS): NOS endotelial (eNOS), NOS neuronal (nNOS) e NOS induzível (iNOS) (SCHWARZ; KLEINERT; FÖRSTERMANN, 1999; FÖRSTERMANN; SESSA, 2012). As nNOS e eNOS são expressas de forma constitutiva em neurônios, fibras nervosas perivasculares e endotélio vascular, respectivamente. Por outro lado, a iNOS é expressa sob condições de estresse pró-inflamatório, sepse e EO (FÖRSTERMANN; SESSA, 2012; KLEINERT; PAUTZ, 2010). As NOS são compostas por um domínio oxigenase que possui locais de ligação para o substrato e cofator, a L-arginina e a tetrahidrobiopterina (BH_4), um grupo heme e um domínio redutase com locais de ligação para doadores de elétrons como a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), flavina adenina dinucleotídeo

(FAD) e flavina mononucleotídeo (FMN). A elevação da concentração de cálcio citosólico e a formação do complexo cálcio-calmodulina (Ca^{2+} -CAM) é o principal mecanismo de ativação das isoformas constitutivas da NOS. O complexo Ca^{2+} -CAM se liga a seu sítio específico na enzima favorecendo a transferência de elétrons do NADPH, via FAD e FMN do domínio redutase para o oxigenase promovendo a formação do $\bullet\text{NO}$ (BUSSE; MÜLSCH, 1990). A síntese ocorre em duas etapas (BATLOUNI, 2001). Na primeira, a NOS atua sobre o seu substrato, a L-arginina, transformando-a em um intermediário, a N^{ω} -hidróxi-L-arginina, e posteriormente, esse intermediário será convertido a L-citrulina e $\bullet\text{NO}$ (RAFIKOV et al., 2011; FARAH et al., 2018). Contudo, a atividade das NOS podem ser reguladas por diversos fatores (VANHOUTTE et al., 2016).

Uma vez formado nas células endoteliais, o $\bullet\text{NO}$ se difunde para o músculo liso e atua sobre a guanilato ciclase solúvel (GCs) formando guanosina monofosfato cíclico (GMPc) a partir de guanosina trifosfato (IGNARRO; KADOWITZ, 1985). O GMPc por sua vez, ativa a proteína quinase dependente de GMPc (PKG) e esta exerce várias ações nas CMLV, conduzindo ao relaxamento vascular (IGNARRO; KADOWITZ, 1985; DUSSE et al., 2003). Dentre os mecanismos pelos quais a PKG promove esse relaxamento, encontram-se: a inibição da liberação de Ca^{2+} induzida por 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3), a estimulação da cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA), a fosforilação/ativação da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP) e a ativação de IK_{Ca} (CARVAJAL et al., 2000; BLANCO-RIVERO; XAVIER, 2020). Além da ação vasodilatadora, o $\bullet\text{NO}$ previne a agregação plaquetária (VASTA, 1995), inibe a adesão de monócitos e neutrófilos ao endotélio (KUBES; SUZUKI; GRANGER et al., 1991), modula o crescimento da parede vascular (SCOTT-BURDEN; VANHOUTTE, 1993), possui efeito antioxidante (WOLIN, 2000), promove biogênese mitocondrial (CSISZAR et al., 2009) e contribui para o efeito antienvelhecimento da restrição calórica (NISOLI et al., 2005).

Estudos em humanos e roedores concordam que o envelhecimento cursa com redução da biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$ subjacente à disfunção endotelial como resultado do desequilíbrio entre sua síntese e degradação (DELP et al., 2008; VAN DER LOO et al., 2000). Esta redução ocorre, dentre outros, devido a deficiência de L-arginina por aumento da atividade da arginase (HOLOWATZ et al., 2006; SANTHANAM et al., 2007; SANTHANAM et al., 2008), redução de co-fatores (ALP; CHANNON, 2004; HIGASHI

et al., 2006) e alterações na densidade tecidual da eNOS e da expressão de seu mRNA. No entanto, esta observação ainda não é consenso na literatura, tendo em vista que alguns autores não observam mudanças e outros inclusive relatam aumento de $\bullet\text{NO}$ com o envelhecimento (BRIONES et al., 2005; CERNADAS et al., 1998; SUN et al., 2004; BARTON et al., 1997; RODRÍGUEZ-MAÑAS et al., 2009; TANG; VANHOUTTE, 2008). Estudos ainda mais recentes têm sugerido uma alteração relacionada a função da eNOS denominada “desacoplamento da eNOS”. Esta condição leva a uma menor produção de $\bullet\text{NO}$ e produção aumentada de $\bullet\text{O}_2^-$ em virtude da deficiência de L-arginina e/ou BH4 (YANG et al., 2009).

É importante ressaltar que a expressão constitutiva e não constitutiva das NOS e a produção de $\bullet\text{NO}$ foi relatada no PVAT (HAI-MEI et al., 2013; VICTORIO et al., 2016; XIA et al., 2016). Dessa forma, como o PVAT é parte integrante da parede vascular é concebível que as respostas vasculares observadas *in vivo*/ *in vitro* envolvendo o $\bullet\text{NO}$ sejam atribuíveis também a esta fonte.

- Espécies reativas de oxigênio

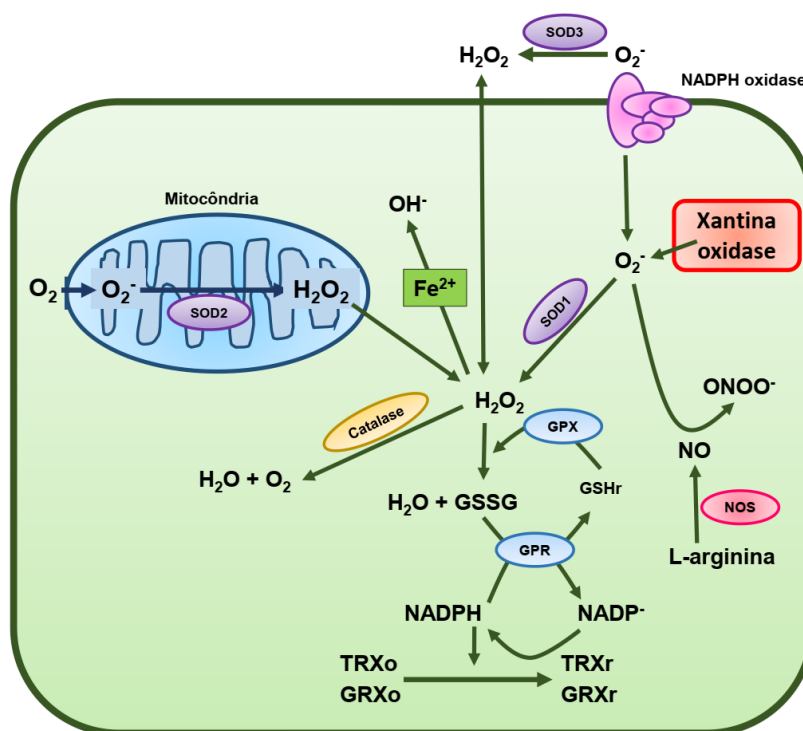
EROs é um termo que cobre uma série de moléculas, radicais livres ou não, produzidas como intermediário do processo redox durante o metabolismo celular aeróbico caracterizadas por elevada reatividade química. As principais EROs incluem: o $\bullet\text{O}_2^-$, o radical hidroxil ($\bullet\text{OH}$), o íon hidroxil (OH^-), o H_2O_2 , o ozônio (O_3), o ácido hipocloroso (HOCl) e o peroxinitrito ($\bullet\text{ONOO}^-$), sendo este último uma espécie reativa de nitrogênio (FRIDOVICH, 1978; ZHOU et al., 2013).

Existe um paradoxo histórico acerca do papel das EROs como biomoléculas essenciais e como subprodutos tóxicos do metabolismo, estando relacionado aos seus níveis teciduais. Em baixas concentrações, as EROs participam da regulação fisiológica de muitas funções celulares, como crescimento, senescência e apoptose, já em níveis excessivos tornam-se nocivas às células (BROWN; GRIENDLING, 2014; SENA; CHANDEL, 2012). Assim, um equilíbrio preciso entre a sua produção e sua remoção se torna importante para a manutenção da fisiologia celular. No entanto, alguns estudos tem relatado o desequilíbrio dessa homeostase a favor da produção de oxidantes, o qual é

denominado de estresse oxidativo (EO) (GARCÍA RUIZ; FERNÁNDEZ-CHECA, 2018; SCHIEBER; CHANDEL, 2014).

Fontes enzimáticas de EROs estão presentes na parede arterial, incluindo a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase, a cadeia respiratória mitocondrial, a eNOS desacoplada, a ciclooxigenase (COX), a lipoxigenase (LOX) e o citocromo P450 (LAMBETH, 2007; PI et al., 2014). Ademais, a vasculatura também exibe sistemas enzimáticos que neutralizam as EROs, como as isoformas da superóxido dismutases (SOD2; MnSOD – manganês; CuZnSOD1 – cobre-zinco; EcSOD3 – extracelular), a catalase, a glutathiona peroxidase, a paraoxonase, a tiorredoxina peroxidase, as heme oxigenases e o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) (LEE, 2017; SANTILLI et al., 2015). Além destas, polifenóis e as vitaminas C e E provenientes da dieta também participam desta função (RESHI; SU; HONG, 2014) (Figura 5).

Figura 5. Principais fontes geradores e neutralizantes das EROs. Cadeia de transporte de elétrons mitocondrial; NADPH oxidase; xantina oxidase; SOD1, superóxido dismutase isoforma 1; SOD2, superóxido dismutase isoforma 2; SOD3, superóxido dismutase isoforma 3; superóxido dismutase; GPX, glutathiona peroxidase; TRX, tiorredoxina, ONOO⁻, peroxinitrito, GPR, glutathiona redutase; GRXo, glutaredoxina oxidada; GRXr, glutaredoxina reduzida; GSHr, glutathiona reduzida; GSSG, glutathiona oxidada; TRXo, tiorredoxina oxidada; TRXr, tiorredoxina reduzida.



Fonte: (SANTOS-ROCHA, 2018).

Dentre as EROs, o O_2^- está envolvido em diversas ações que conduzem ao dano vascular. Apesar de sua curta meia-vida (2-4 μs) e incapacidade de se difundir através das membranas biológicas (exceto via canais iônicos), é altamente reativo, provocando modificações extensas em macromoléculas, incluindo lipídios e proteínas. Além disso, pode oxidar a BH4 e reagir com o $\bullet\text{NO}$, por um processo regulado pela taxa de difusão de ambos os radicais, reduzindo sua biodisponibilidade e conduzindo a formação de $\bullet\text{ONOO}^-$ (BECKMAN et al., 1990; BRIONES et al., 2010; GOLDSTEIN; CZAPSKI., 1995). Localmente o O_2^- é dismutado a H_2O_2 pelas isoformas da SOD, o H_2O_2 é rapidamente metabolizado a água e oxigênio por sistemas enzimáticos, incluindo glutathione peroxidase, a catalase e o sistema tioredoxina (MEYER et al., 2009), no entanto na presença de metais de transição (como Fe^{2+} , Cu^{2+}) pode ser convertido em $\bullet\text{OH}$ (VALKO et al., 2007) (Figura 5).

A relação entre EROs, envelhecimento e doenças relacionadas à idade tem sido abordada (XXXX). A teoria do envelhecimento afirma que com o passar dos anos ocorre o aumento da produção de radicais livres promovendo um desequilíbrio entre sua síntese e/ou remoção com consequente dano oxidativo (HARMAN, 1956; BARDAWEEL et al., 2018). No que diz respeito ao PVAT, Gao e colaboradores (2006) relatou a produção de O_2^- , via NADPH oxidase, através da eletroestimulação em AMR. Desta forma o PVAT se soma a outros componentes como mais uma fonte de EROs na parede arterial.

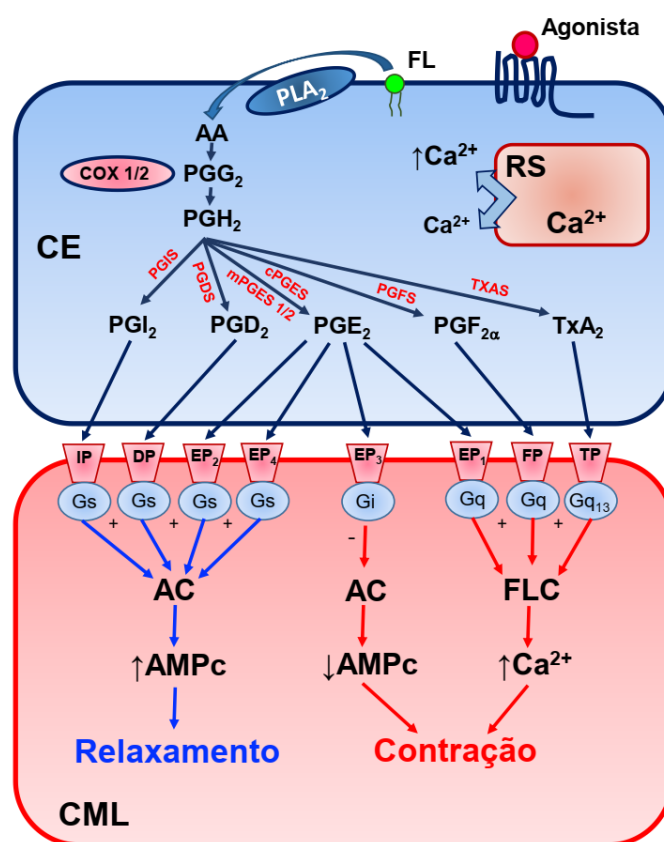
- Prostanóides

Os prostanóides são potentes mediadores lipídicos derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA) com funções importantes na modulação do tônus vascular. Esses mediadores incluem as prostaglandinas (PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGD_2), a PGI_2 e o TxA_2 , sendo o produto final determinado pela abundância local das enzimas envolvidas em sua síntese, estas são: a prostaciclina sintase (PGIS), a prostaglandina D sintase (PGDS), a prostaglandina E sintase (PGES) e suas isoformas: cPGES – isoforma citosólica; mPGES 1 e 2 – isoformas ligada a membrana, a prostaglandina F sintase (PGFS) e a tromboxano sintase (TXAS) (Figura 6) (BOS et al., 2004).

Fisiologicamente, ao sofrer ação da fosfolipase A_2 (PLA_2), o AA é convertido a endoperoxídeos cíclicos (PGG_2) e reduzido a PGH_2 pela COX, estes servirão de substrato

para a produção de PGI_2 , PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ e TxA_2 , seus efeitos vasculares são dependentes do tipo de receptor ao qual se ligarão, dentre os quais podem levar a vasoconstrição e/ou vasodilatação. Além destes, os substratos podem sofrer ação da LOX dando origem ao ácido 15-s-hidroxieicosatetraenóico, substância capaz de produzir contração vascular (VANHOUTTE; EBER, 1991).

Figura 6. Síntese e mecanismos de sinalização dos prostanóides. FL, Fosfolipídio; PLA₂, Fosfolipase A₂; AA, Ácido araquidônico; PGH₂, Endoperóxido cíclico; RS, retículo sarcoplasmático; IP, Receptor de PGI_2 ; DP, Receptor para PGD_2 ; EP, Receptor para PGE_2 ; FP, Receptor para $\text{PGF}_{2\alpha}$; TP, Receptor para TxA_2 ; AC, adenilato ciclase; FLC, fosfolipase C; CE, célula endotelial; CML, célula muscular lisa.



Fonte: (SANTOS-ROCHA, 2018).

Dentre os prostanóides supracitados, exercem efeitos mais expressivos no controle do tônus vascular o TxA_2 e a PGE_2 , onde, ao se ligarem a seus respectivos receptores, TP e $\text{EP}_{1/2}$, nas CMLV ativam a fosfolipase C (PLC) via proteína G_q , levando à formação de IP_3 e diacilglicerol (DAG), os quais conduzirão ao aumento intracelular de Ca^{2+} e à contração vascular (WONG; VANHOUTTE, 2010; ELLINSWORTH et al., 2014; MITCHELL; KIRKBY, 2019) (Figura 6). Além deste efeito, estes prostanóides podem

influenciar a agregação plaquetária, a produção de citocinas e a migração e proliferação de CMLV (LEBENDER et al., 2018). Ademais, nos últimos anos, evidências tem mostrado uma relação entre EROs e produtos derivados da COX. Assim, as EROs podem ativar a COX induzindo a formação de prostaglandinas as quais podem induzir a produção de EROs através da estimulação dos grupos enzimáticos anteriormente citados, constituindo um ciclo vicioso de síntese de produtos pró-oxidativos e vasoconstritores (TANG; VANHOUTTE, 2008; WATKINS et al., 1999).

Evidências em células endoteliais de roedores indicam que as concentrações de prostanóides vasoconstritores derivados da COX aumentam consideravelmente com a idade, enquanto há queda de prostanóides vasodilatadores (TANG; VANHOUTTE, 2008; HEYMES et al., 2000). Além disso, o prejuízo no relaxamento dependente do endotélio por parte das prostaglandinas acompanha também o envelhecimento em humanos (SINGH et al., 2002). Assim, além de favorecer o desequilíbrio redox, como anteriormente mencionado, o envelhecimento favorece também a ativação de vias pró-inflamatórias, mudando o perfil vasodilatador para um perfil vasoconstritor, predispondo a eventos cardiovasculares adversos.

A produção de prostanóides também foi relatada no PVAT. Mendizábal e colaboradores (2013) estudaram o papel vasoativo das prostaglandinas derivadas do PVAT em AMR e seus efeitos na função endotelial durante a síndrome metabólica. Seus resultados mostram que a disfunção endotelial observada nestes animais está relacionada, em parte, com a liberação de prostaglandinas derivadas do PVAT, uma vez que a inibição específica da COX-2 melhorou o relaxamento a ACh em artérias +PVAT, sem trazer modificações aquelas -PVAT.

Grandes mudanças ocorrem nos depósitos de tecido adiposo ao longo da vida. No envelhecimento, essas mudanças estão associadas à massa, distribuição e função do tecido adiposo (CARTWRIGHT; TCHKONIA; KIRKLAND, 2007). Encontra-se bem documentado que o avanço da idade favorece a perda do TAB subcutâneo, acúmulo na região visceral e redistribuição dos depósitos, surgindo em regiões não convencionais (deposição ectópica) (SCHWARTZ et al., 1990; BARZILAI; GUPTA, 1999; SCHOSSERER, 2018). Além desses, prejuízo do potencial regenerativo e da capacidade de diferenciação dos precursores dos adipócitos (SCHOSSERER et al., 2018), desenvolvimento de um estado inflamatório associado a idade (*“inflammaging”*)

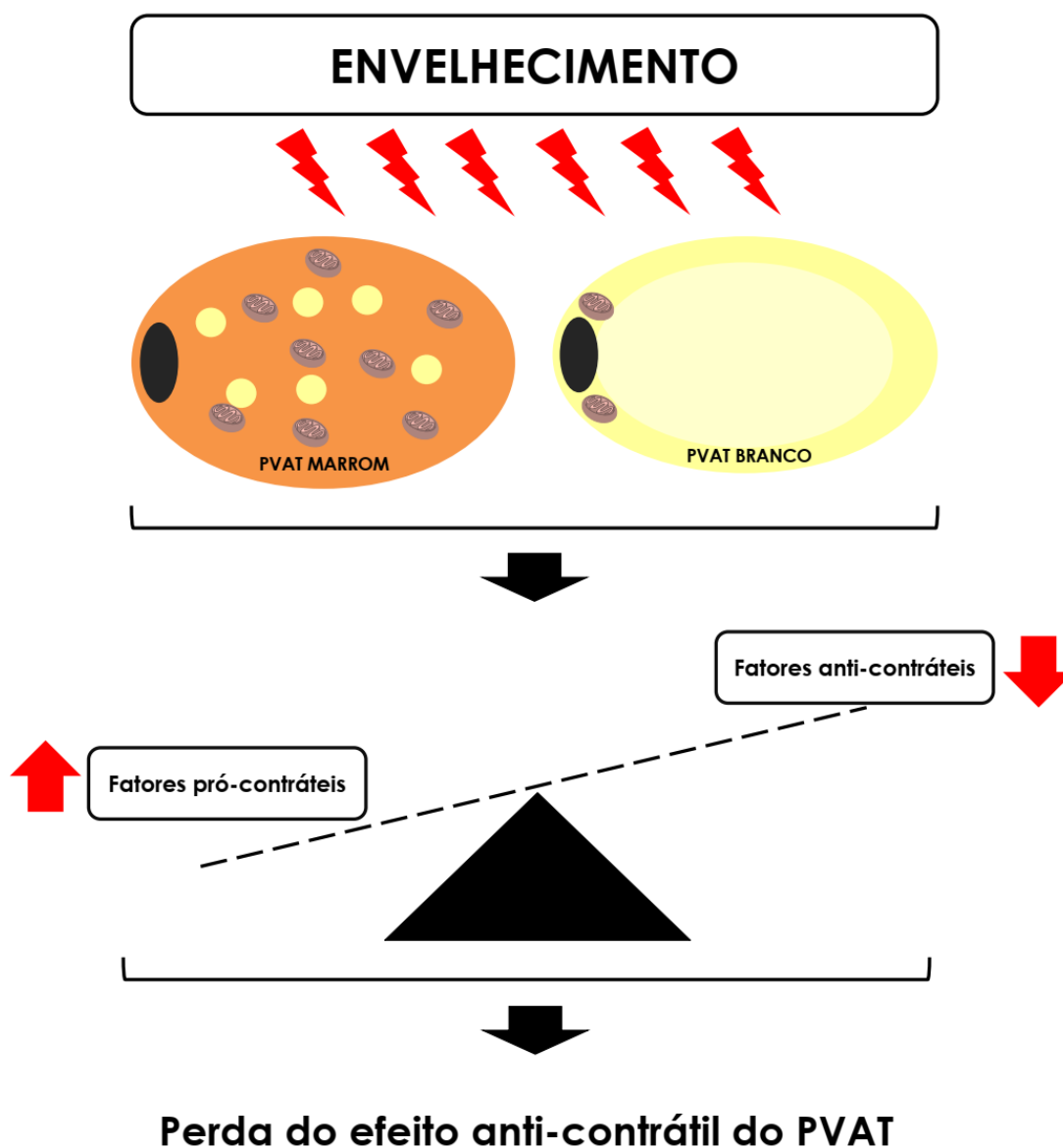
(FRANCESCHI et al., 2000; MAU; YUNG, 2018) e alteração no perfil de síntese e secreção de adipocinas (MANCUSO; BOUCHARD, 2019) têm sido descritos. Além das alterações no TAB, o envelhecimento também produz redução e clareamento do TAM (LECOULTRE; RAVUSSIN, 2011; RAVUSSIN; GALGANI, 2011; SHIMIZU; YOSHIDA; MINAMINO, 2015) e uma maior densidade de adipócitos brancos em áreas de predomínio dos adipócitos marrom (CYPESS et al., 2009).

O somatório das alterações supracitadas podem resultar em resistência à insulina (DEFRONZO, 1979; ELAHI, 1999) e nos processos mediados pela insulina, como a captação de glicose em tecidos periféricos (REAVEN, 1989; NARIMIYA, 1984), inibição da lipólise (NYBERG; MELLGREN; SMITH, 1976; MILLER; ALLEN, 1973), descontrole hepático da produção de glicose (GUPTA et al., 2000), secreção de triglicerídeos (BRAVO et al., 1996), desregulação térmica e desequilíbrio energético. A partir dessas observações, é plausível que o envelhecimento contribua para o desenvolvimento de doenças associadas a idade por meio das alterações produzidas nos depósitos de gordura.

Alguns estudos também tem revelado que o envelhecimento traz consequências ao papel do PVAT sobre a vasculatura (FANG et al., 2009; KONG et al., 2018; PAN et al., 2018; PAN et al., 2019; PADILLA et al., 2013; FLEENOR et al., 2014). Um estudo publicado por Fleenor e colaboradores (2014) foi o primeiro a descrever a relação entre o PVAT e as alterações vasculares decorrentes do envelhecimento em artérias elásticas. Estes autores demonstraram que o aumento da rigidez arterial em camundongos idosos estava associado a alterações do PVAT. Os autores usaram um modelo de transplante de gordura em um sistema de cultura de tecido *in vitro* e demonstraram que o aumento da rigidez arterial nestes animais estava associado ao aumento da geração de ânions superóxido e da secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pelo PVAT. Mais recentemente, outros autores demonstraram que intervenções que visam reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio foram capazes de minimizar os efeitos do PVAT sobre a rigidez arterial de animais idosos (AGABITI-ROSEI et al., 2017; OUYANG; GARNER; FLEENOR, 2017). Contudo, estudos que tenham buscado caracterizar os efeitos do envelhecimento sobre a modulação exercida pelo PVAT (marrom e branco) na função vascular de artérias de condutância e de resistência são bastante limitados. Desta forma, surge a necessidade de explorar sua função e os mecanismos envolvidos nesta condição, uma vez que o PVAT já é considerado como um

alvo terapêutico. Diante do exposto, a hipótese deste estudo é a de que as alterações da função vascular decorrentes do envelhecimento, podem ser mediados, pelo menos em parte, por uma disfunção do PVAT. Esse processo levaria a redução ou perda da síntese de fatores anti-contráteis, aumento de fatores oxidativos e pró-inflamatórios, piorando o prejuízo vascular no envelhecimento.

Figura 7. Esquema representativo da hipótese deste estudo.



Fonte: O autor (2020).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do envelhecimento sobre o PVAT marrom e branco e sua influência na função contrátil da aorta torácica, abdominal e artéria mesentérica de resistência de ratos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do PVAT sobre a contração induzida por estimulação alfa-adrenérgica em artérias de ratos jovens e idosos;
- Analisar na resposta contrátil a participação de mediadores derivados do PVAT (p.ex. óxido nítrico, prostaglandinas, espécies reativas de oxigênio) sobre a reatividade vascular dos grupos experimentais citados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Todos os procedimentos experimentais executados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação e Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE - Protocolo nº 0071/2018), que seguem os princípios éticos da pesquisa com animais adotados pela Sociedade Brasileira de Ciências de Animais de Laboratório (SBCAL).

Ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), aos 03 e 23 meses de idade foram adquiridos do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco e mantidos em gaiolas de polipropileno, acondicionadas em ambiente com temperatura controlada de 22 ± 2 e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à água e à alimentação.

4.2 ESTUDOS DE REATIVIDADE VASCULAR EM ANÉIS DE AORTA E AMR

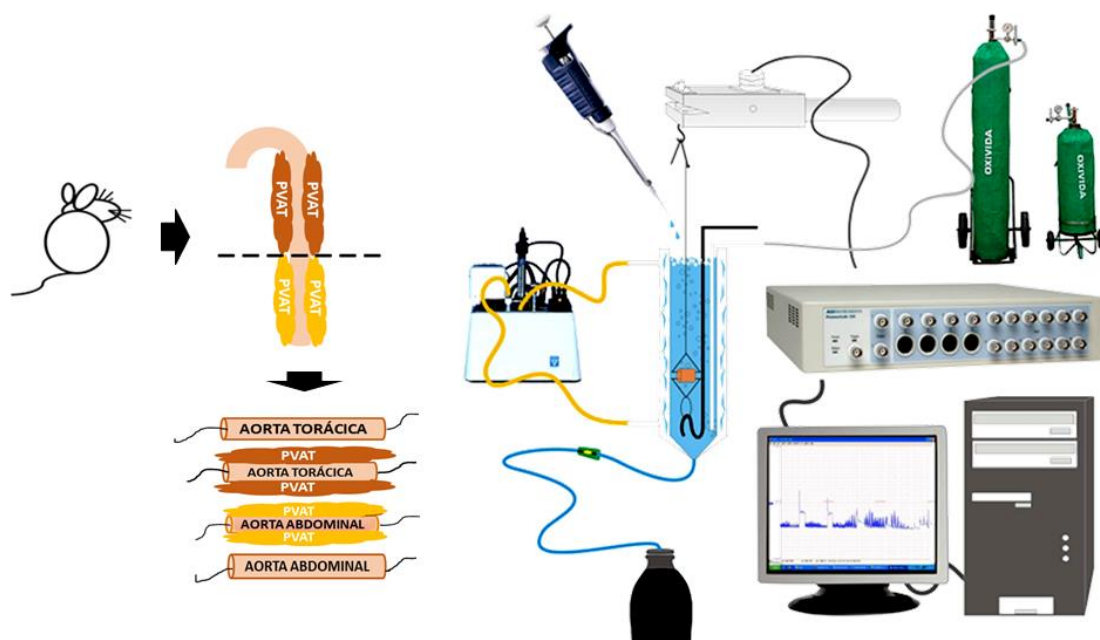
- Aorta torácica e abdominal

Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina e xilazina (64.9; 3.2 mg/kg, respectivamente, i.p.) e exanguinados. A aorta foi delicadamente manipulada e limpa de tecidos conectivos. Anéis de 3 mm de comprimento foram obtidos da porção torácica e abdominal na +PVAT e -PVAT. Afim de excluir as possíveis modulações exercidas por parte do endotélio e entender de maneira mais objetiva o papel do PVAT na reatividade vascular, o endotélio foi mecanicamente removido (E-) através da fricção do lúmen arterial com um fio metálico.

Cada anel foi montado em câmara de vidro contendo 5 mL de solução de Krebs Henseleit (composição em mM: 115 NaCl, 2,5 CaCl₂, 4,6 KCl, 1,2 KH₂PO₄, 1,2 MgSO₄.7H₂O, 25 NaHCO₃, 11,1g de glicose e 0,03 EDTA) continuamente aquecida a 37°C e ininterruptamente gaseificada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂), mantendo o pH estável em 7,4. Para a montagem, dois fios de aço inoxidável, de formato triangular, foram inseridos no lúmen dos segmentos vasculares, de forma que permanecessem paralelos. Um triângulo foi fixado a uma haste na parede da cuba e o

outro conectado verticalmente a uma haste móvel presa a um transdutor de tensão isométrica de deslocamento de força (Letica TRI 201; Panlab, SL, Barcelona, Espanha). O transdutor foi conectado a um amplificador (Bridge Amp, ML119; ADInstruments), este último, a um sistema de aquisição de dados (PowerLab 8/35, ML870/P ADInstruments) e este a um computador (Figura 8). Assim, qualquer alteração na tensão desenvolvida pela artéria era captada pelo transdutor e o sinal amplificado. As artérias foram mantidas em tensão de repouso de 1,0 g, a qual foi reajustada durante o período de estabilização de 45 minutos.

Figura 8. Esquema representativo de miógrafo para avaliação da reatividade vascular em aorta.



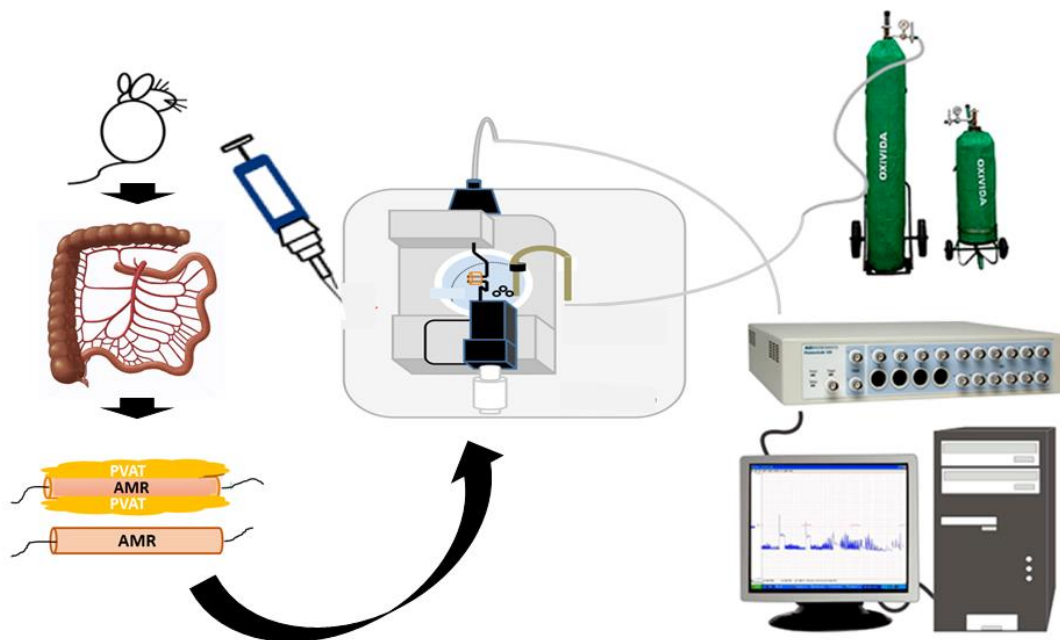
Fonte: O autor (2020).

- Artérias mesentéricas de resistência (AMR)

Para estudo da reatividade vascular em AMR, foi utilizada a metodologia descrita por MULVANY & HALPERN (1977). Para tal, artérias de terceira ordem do leito mesentérico (diâmetro interno 250-300 μm) foram dissecadas e cortadas em segmentos entre 1,7 - 2,0 mm de comprimento na presença e/ou ausência do PVAT (+PVAT/-PVAT) e ausência do endotélio (E-). Cada segmento foi montado imerso em solução de Krebs-Henseleit numa câmara de metal e dois fios de tungstênio (40 μm de diâmetro) foram inseridos em seu lúmen em um miógrafo para vasos resistência (Danish Myo Tech,

Modelo 610M, Aarhus, Dinamarca) para estudos de tensão isométrica, estando um dos fios conectados a um transdutor de tensão. Dessa forma, qualquer alteração de tensão arterial era captada e amplificada. Esse miógrafo estava conectado a um sistema de aquisição de dados (PowerLab 8/35; ADInstruments, Australia) e este a um computador (figura 9). Após um período de estabilização de 30 minutos em solução gaseificada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂) a temperatura de 37°C e pH de 7,4, as artérias foram estiradas a um diâmetro luminal ideal para desenvolvimento de tensão ativa máxima. Para isso, em cada segmento arterial a relação tensão:diâmetro interno foi calculada, ajustando seu diâmetro interno, L_0 , em 90% do diâmetro que cada artéria teria se estivesse exposta a uma pressão transmural de 100 mmHg (MULVANY; HALPERN, 1977). O diâmetro interno (l_1) foi determinado de acordo com a equação $l_1 = L_1/\pi$, utilizando um software específico para normalização de cada segmento arterial (DMT Normalization Module, ADInstruments). L_1 representa a tensão passiva equivalente a 100 mmHg de pressão transmural.

Figura 9. Esquema representativo de miógrafo para avaliação da reatividade vascular em AMR.



Fonte: O autor (2020).

4.2.3 Protocolos experimentais

Após o período de estabilização de 45 minutos, foi adicionado às câmaras contendo os segmentos vasculares uma solução de cloreto de potássio (KCl) (75 mM para aorta e 120 mM para AMR) afim de verificar a viabilidade do músculo liso vascular através da atividade contrátil máxima induzida por despolarização, independente de vias associadas a receptores de membrana. A contração máxima foi aguardada para anéis de AMR sendo notada pela presença de um platô no registro da contração. Os anéis que não obtiveram contração foram descartados. Os segmentos viáveis foram lavados três vezes com solução de Krebs Hesenleit. Após 30 minutos de estabilização, uma nova exposição ao KCl foi realizada apenas em anéis de aorta para a aquisição da contração máxima do músculo liso vascular, após platô, estes anéis foram lavados com solução de Krebs-Henseleit até retornarem a tensão de repouso.

Após um novo período de estabilização de 30 minutos, as artérias foram pré-contraindidas com fenilefrina (FE, 10 μ M, em anéis de aorta torácica e abdominal) ou noradrenalina (NA, 10 μ M, em anéis de AMR) e, mediante formação de um platô na contração, a acetilcolina (1 μ M, um agente vasodilatador dependente do endotélio) foi administrada com a finalidade de verificar a efetividade do método de remoção do endotélio. A ausência do endotélio foi considerada para relaxamentos igual ou inferior a 5%.

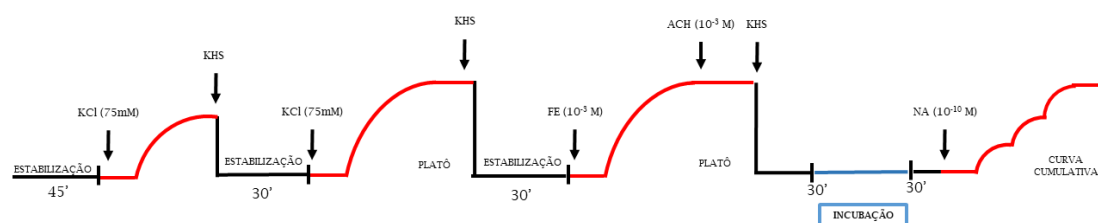
A influência do PVAT foi investigada através de curvas concentração-resposta à FE (10^{-10} - 10^{-4} M) ou à NA (10^{-10} - 10^{-4} M) em artérias com ou sem PVAT (+PVAT/-PVAT) isoladas de ratos jovens e idosos. Inibidores e miméticos também foram utilizados. Para tal, a participação do $\bullet$ NO nos efeitos produzidos pelo PVAT sobre a resposta contrátil à FE ou NA foi investigada utilizando o inibidor não seletivo da NOS, o N(ω)-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME - 100 μ M). A participação de ânions superóxido foi investigada por meio do uso do MnTMPyP (10 μ M), um antioxidante mimético da SOD-Mg. Ademais, a participação da via da COX foi investigada através do uso da indometacina (10 μ M), um inibidor não seletivo da COX. Todos os fármacos foram separadamente adicionados ao banho 30 minutos antes do início da curva de contração (Figura 10).

Com a finalidade de comparar a magnitude de efeito dos fármacos sobre a resposta contrátil à FE ou NA em artérias dos diferentes grupos estudados, a diferença da área abaixo da curva (dAUC) de concentração-resposta à FE ou NA em situação controle (sem

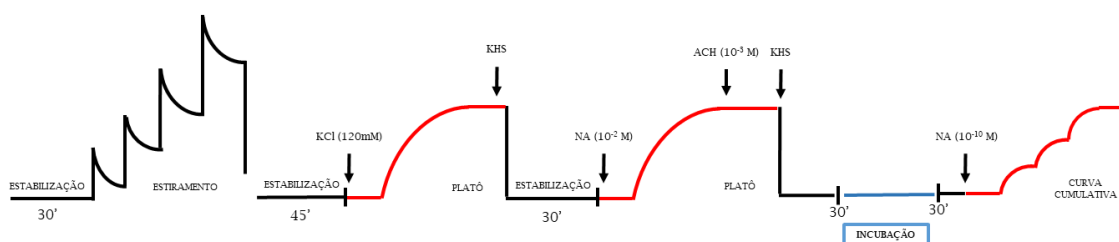
fármacos) e experimental (com fármacos) foi calculada. A AUC foi calculada para cada curva concentração-resposta e a diferença foi expressa como porcentagem da diferença da AUC (dAUC) da curva controle.

Figura 10. Esquema ilustrativo do protocolo de reatividade vascular em aorta (A) e em AMR (B).

A



B



Fonte: O autor (2020).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados serão expressos como média $\pm$ erro padrão da média. A Análise estatística foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA), duas vias. Quando a ANOVA apresentou significância estatística o teste *post-hoc* de Bonferroni foi aplicado (GraphPad Prism Software, San Diego, CA, EUA). Os resultados foram considerados significantes para valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 EFEITO DO PVAT SOBRE A RESPOSTA VASCULAR CONTRÁTIL DE AORTA E ARTÉRIA MESENTÉRICA DE RESISTÊNCIA

A contração induzida pelo KCl (75 mM, aorta e 120 mM, AMR) foi semelhante entre os grupos na presença ou ausência do PVAT (Aorta torácica: +PVAT 03m: $2,00 \pm 0,17$ g vs. +PVAT 23m: $2,00 \pm 0,10$ g $P > 0,05$; -PVAT 03m: $1,99 \pm 0,14$ g vs. -PVAT 23m: $2,00 \pm 0,15$ g $P > 0,05$; Aorta abdominal: +PVAT 03m: $1,99 \pm 0,17$ g vs. +PVAT 23m: $2,10 \pm 0,10$ g $P > 0,05$; -PVAT 03m: $2,08 \pm 0,10$ g vs. -PVAT 23m: $2,07 \pm 0,13$ g $P > 0,05$; AMR: +PVAT 03m: $7,56 \pm 0,4$ mN vs. +PVAT 23m: $7,42 \pm 0,4$ mN $P > 0,05$; -PVAT 03m: $7,48 \pm 0,5$ mN vs. -PVAT 23m: $7,50 \pm 0,4$ mN $P > 0,05$). Na aorta, a resposta vasoconstritora a FE foi expressa de acordo com a força e o comprimento de cada anel medido em miliNewton/milímetro (mN/mm).

A resposta contrátil à fenilefrina (FE) (aorta torácica e abdominal) e à noradrenalina (NA) (AMR) foram avaliadas em artérias +PVAT e -PVAT de animais jovens e idosos. Como anteriormente descrito na literatura, em ratos adultos jovens, a resposta contrátil à estimulação alfa adrenérgica na aorta torácica e AMR +PVAT foi menor quando comparada às artérias -PVAT (Figura 11A, 11C), indicando que o PVAT modula negativamente a resposta contrátil nestas artérias. Em contrapartida, na aorta abdominal de ratos jovens, a presença do PVAT não alterou a resposta contrátil induzida pela FE (Figura 11B).

Em ratos idosos, a presença do PVAT em anéis de aorta torácica (Figura 12A) e AMR (Figura 12C) não modificou a resposta contrátil à FE e à NA, respectivamente. Semelhante ao observado em ratos jovens, a presença do PVAT na aorta abdominal (Figura 12B) de ratos idosos não promoveu modificações na resposta contrátil à FE.

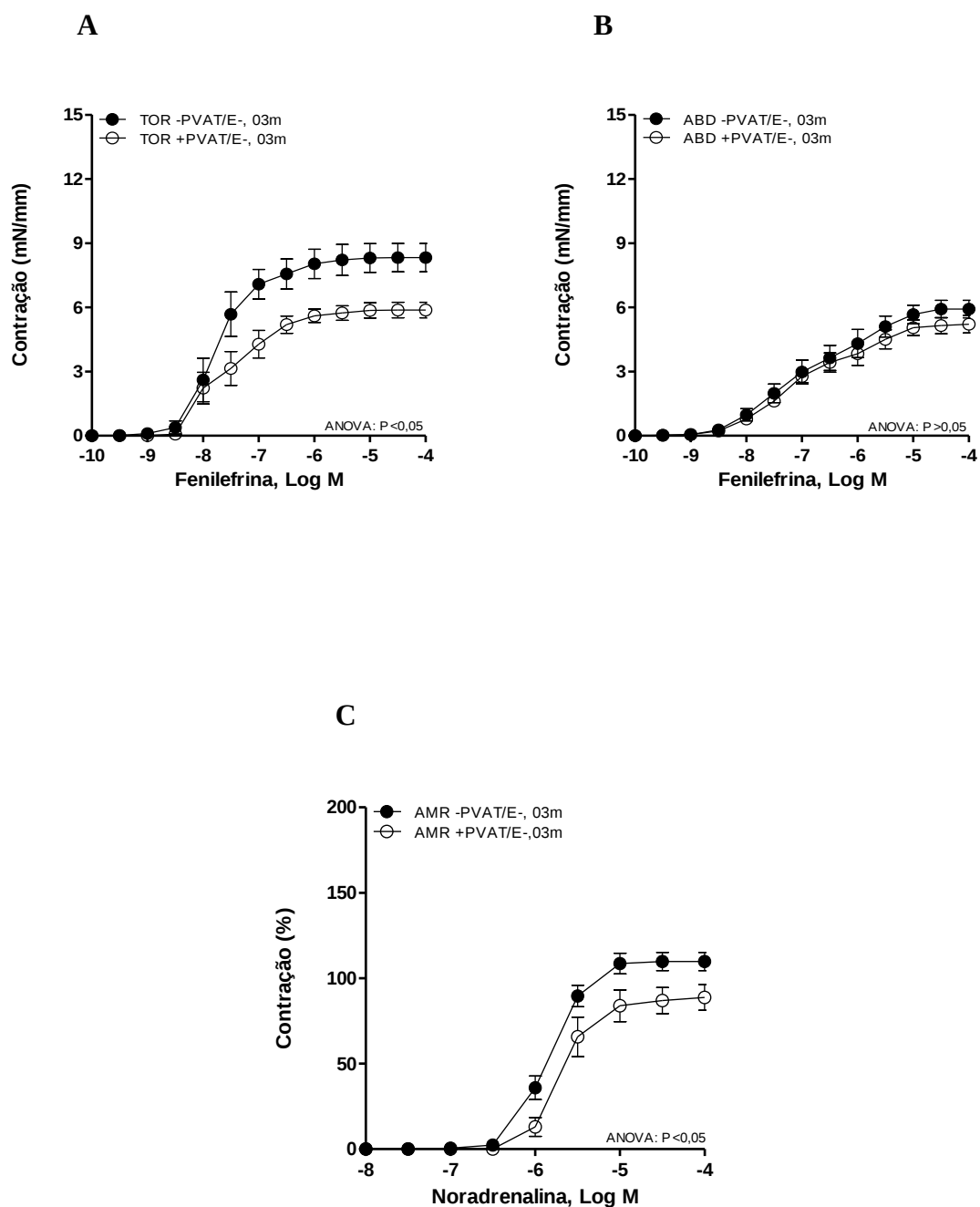


Figura 11. Curvas concentração-resposta à fenilefrina (A, B) e à noradrenalina (C) em aorta torácica (TOR, A), abdominal (ABD, B) e artéria mesentérica de resistência (AMR, C) na presença (+PVAT) ou ausência (-PVAT) do tecido adiposo perivascular (PVAT) de ratos com três meses de idade (03m). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

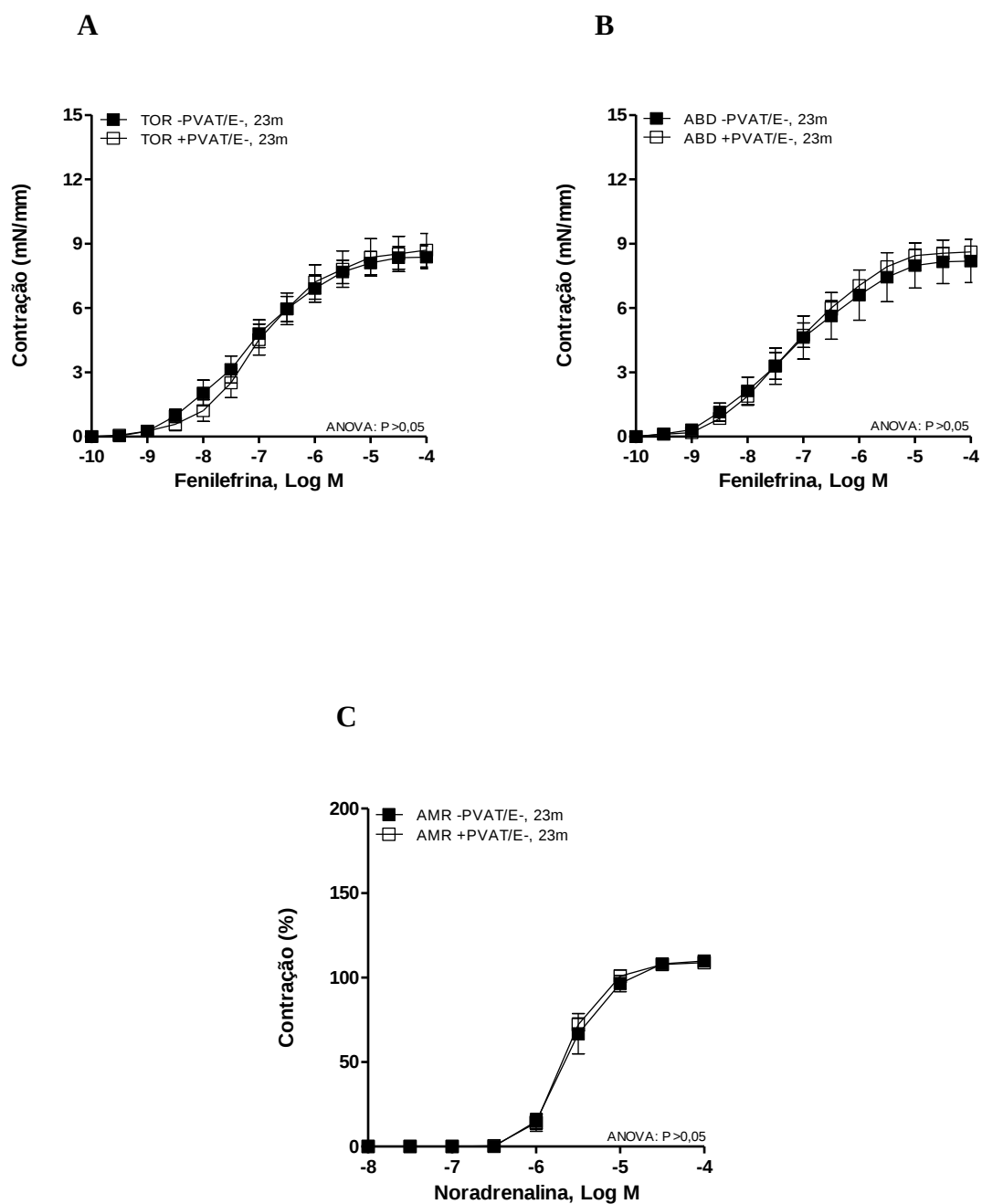


Figura 12. Curvas concentração-resposta à fenilefrina (A, B) e noradrenalina (C) em aorta torácica (TOR, A), abdominal (ABD, B) e artéria mesentérica de resistência (AMR, C) na presença (+PVAT) ou ausência (-PVAT) de tecido adiposo perivascular (PVAT) de ratos com vinte e três meses de idade (23m). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

5.2 PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO SOBRE OS EFEITOS VASCULARES EXERCIDOS PELO PVAT EM ARTÉRIAS DE RATOS JOVENS E IDOSOS

Com o intuito de investigar se as alterações induzidas pelo envelhecimento sobre o efeito do PVAT na contração induzida por FE ou NA envolve modificações na via do •NO, segmentos arteriais +PVAT foram pré-incubadas com L-NAME. O efeito do L-NAME em artérias +PVAT de animais jovens e velhos foi comparado.

Como é possível observar na Figura 13, tanto em segmentos de aorta torácica e abdominal oriundas de animais jovens (Figura 13^a e 13B) quanto de animais idosos (Figura 13C e 13D) a pré-incubação com L-NAME potencializou de maneira significativa a resposta contrátil à FE. Entretanto, essa resposta foi de menor magnitude na aorta abdominal de ratos idosos, como evidenciado pela diferença de área abaixo da curva à FE (dAUC) na ausência e na presença de L-NAME (Figura 13E). Com o intuito de confirmar se o efeito do L-NAME era dependente do PVAT, anéis de aorta torácica e abdominal sem PVAT foram pré-incubados com esse inibidor da NOS. Na ausência do PVAT, o L-NAME não modificou significativamente a curva de concentração-resposta à FE na aorta torácica e abdominal dos grupos estudados (Figura 14).

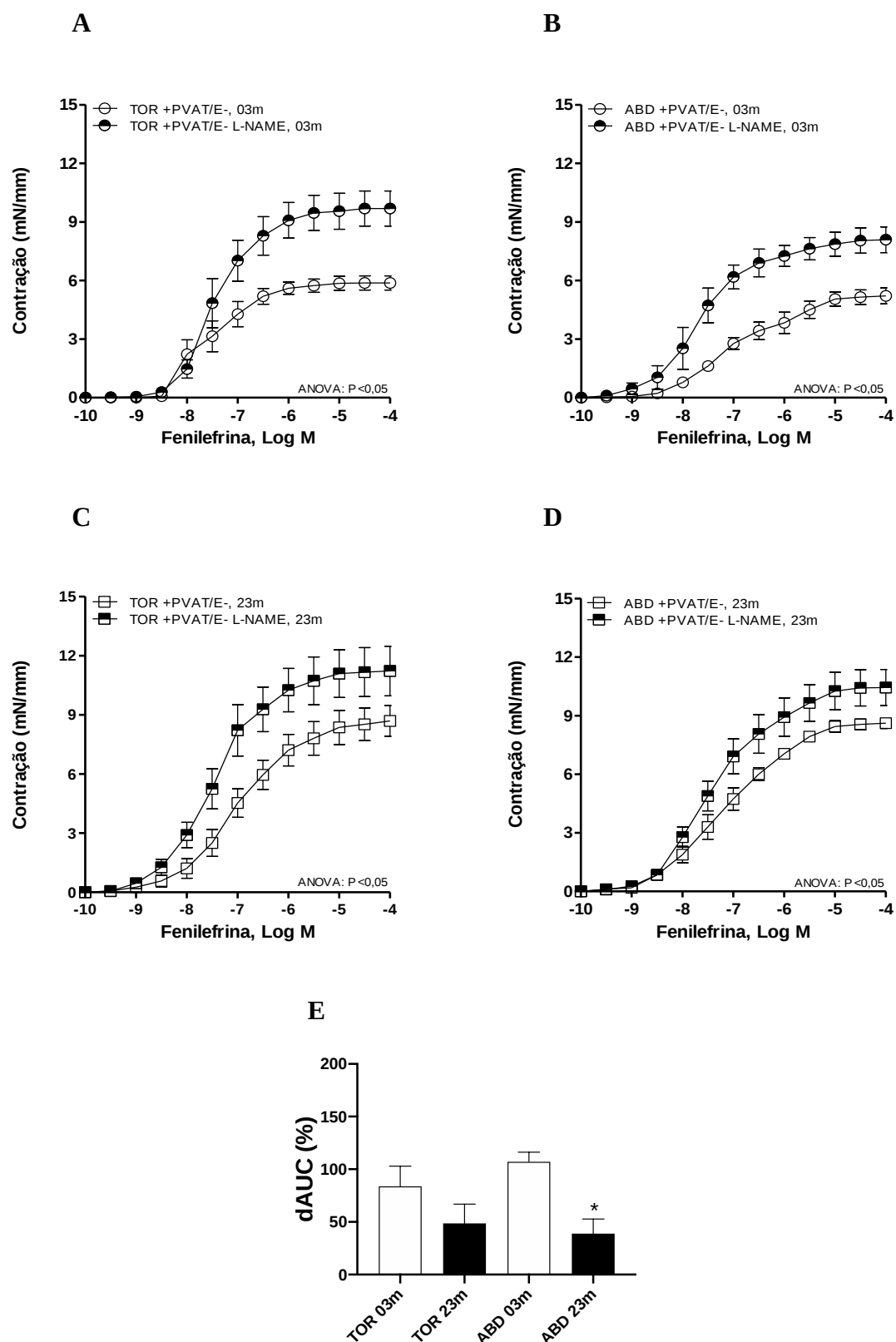


Figura 13. Efeito da pré-incubação com L-NAME sobre a contração induzida por fenilefrina na aorta torácica (A, C) e abdominal (B, D) sem endotélio (E-) e na presença (+PVAT) do tecido adiposo perivascular (PVAT) de ratos aos três (03m) e vinte e três (23m) meses de idade. (E), Diferença percentual da área abaixo da curva de concentração-resposta à fenilefrina (dAUC) em artérias dos quatro grupos experimentais. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N= 6-8 por grupo. Teste t: * $P < 0,05$ vs. ABD 03m.

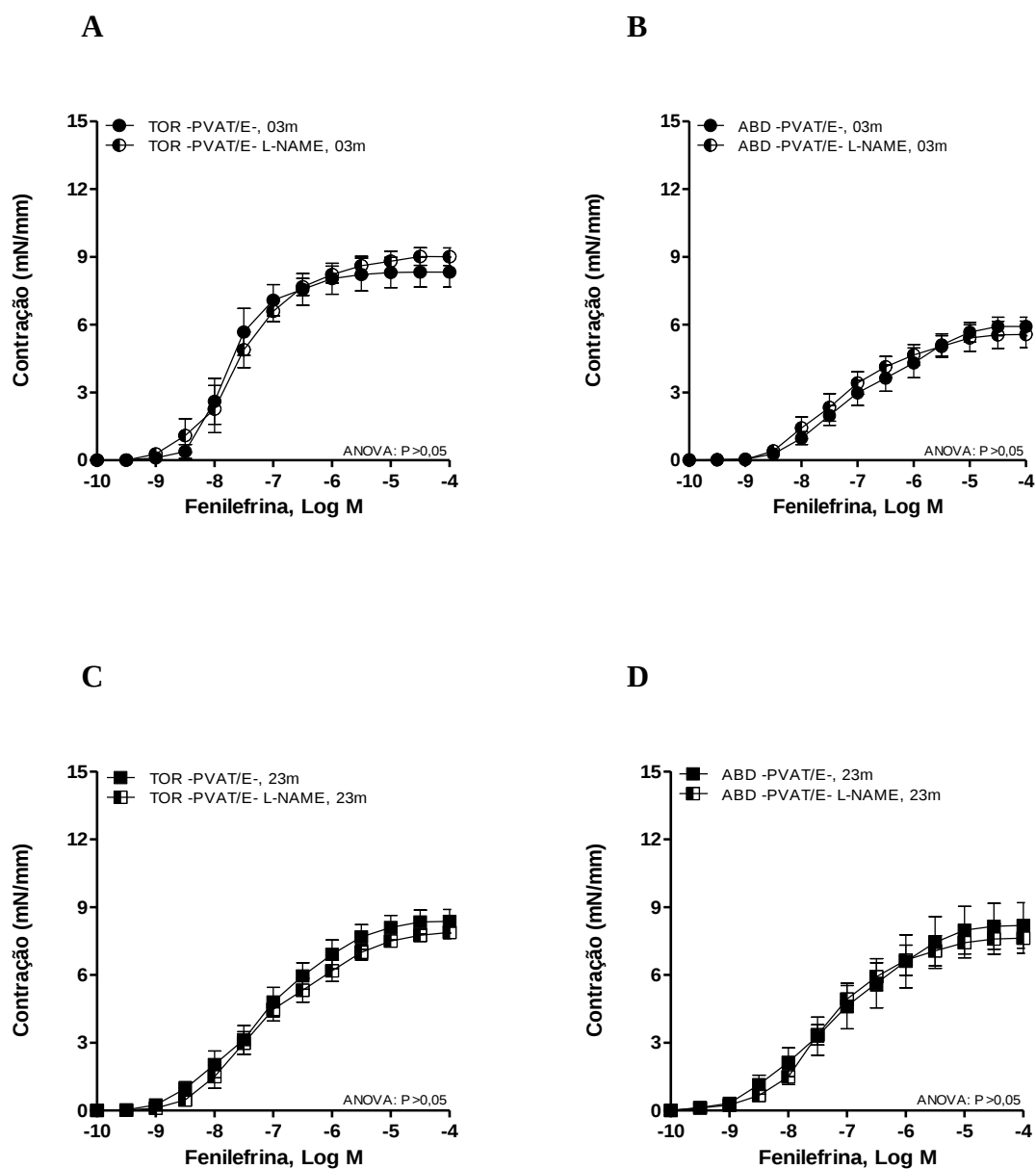


Figura 14. Efeito da pré-incubação com L-NAME sobre a contração induzida por fenilefrina na aorta torácica (A, C) e abdominal (B, D) sem endotélio (E-) e na ausência (-PVAT) do tecido adiposo perivascular (PVAT) de ratos aos três (03m) e vinte e três (23m) meses de idade. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N= 6-8 por grupo.

Semelhante ao observado na aorta torácica, o L-NAME potencializou a contração induzida por NA nas AMR de ratos jovens (Figura 15^a). Por outro lado, nas AMR de ratos idosos, a resposta contrátil à NA foi reduzida na presença de L-NAME (Figura 15B). Em ambos grupos, o efeito do L-NAME foi dependente da presença do PVAT, uma vez que na sua ausência (-PVAT) não foram observadas modificações significativas na resposta contrátil à NA (Figura 15C e 15D).

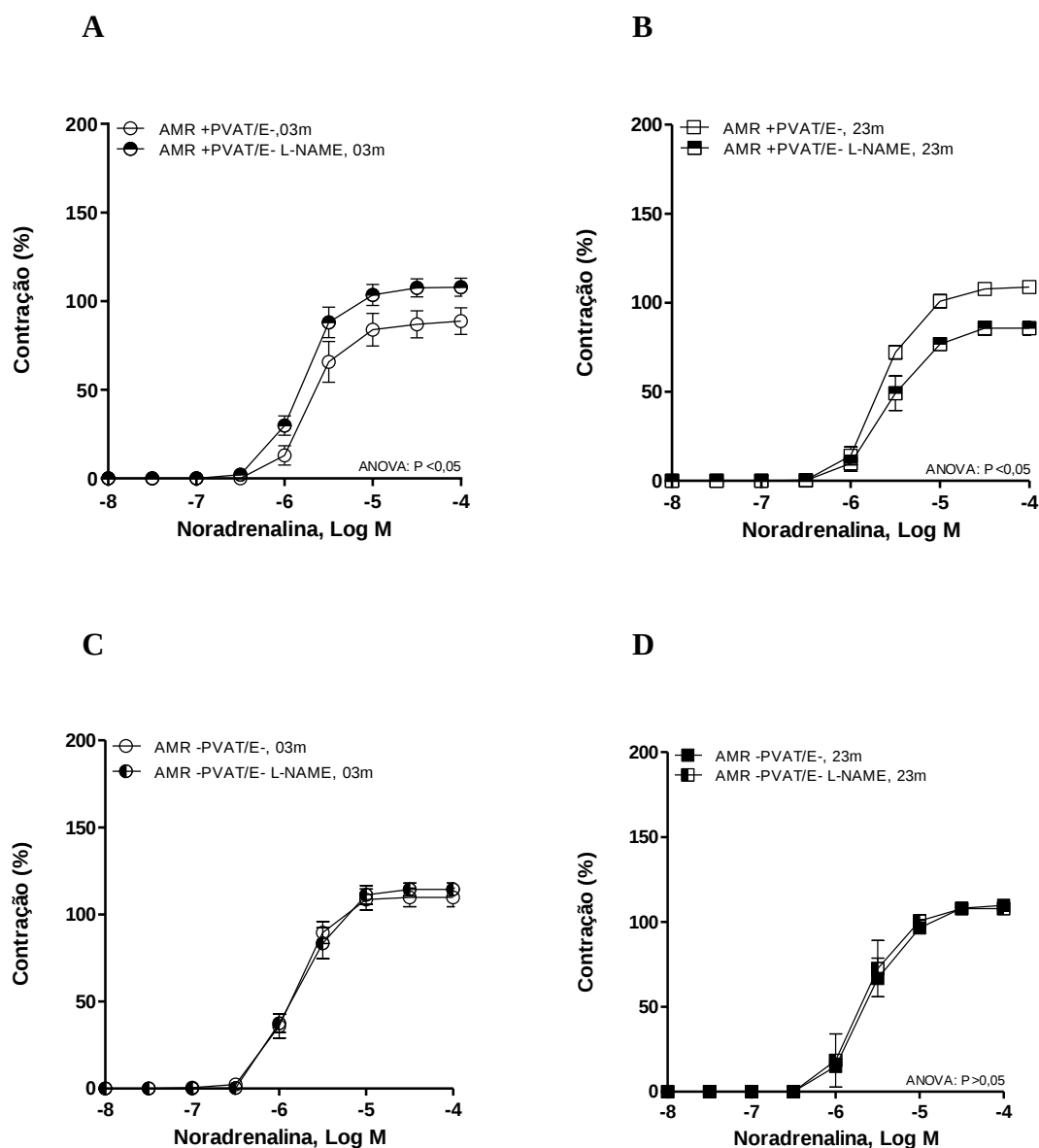


Figura 15. Efeito da pré-incubação com L-NAME sobre a contração induzida por noradrenalina nas AMR de ratos sem endotélio (E-) de ratos com três (03m, A, C) e vinte e três (23m, B, D) meses de idade. Experimentos foram realizados na presença (+PVAT, A, B) e na ausência (-PVAT, C, D) do tecido adiposo perivascular (PVAT). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N= 6-8 por grupo.

5.3 EFEITO DO ENVELHECIMENTO SOBRE A PRODUÇÃO DE EROS DERIVADAS DO PVAT

O envelhecimento está associado a um aumento da produção de EROs. Com o objetivo de investigar se essas espécies contribuem para a perda do efeito anti-contrátil em animais idosos, os segmentos de artérias foram pré-incubados com o MnTMPyP (um mimético da superóxido dismutase). Nas artérias de ratos jovens, o MnTMPyP não modificou a resposta contrátil à estimulação alfa-adrenérgica (Figura 16A, 16B e 16C). Em ratos idosos (23m), houve redução da resposta contrátil nas três artérias avaliadas (Figura 17A, 17C e 17E) apenas na presença do PVAT (+PVAT). Em anéis sem PVAT (-PVAT) não houve modificação da resposta contrátil na presença do MnTMPyP (Figura 17B, 17D e 17F).

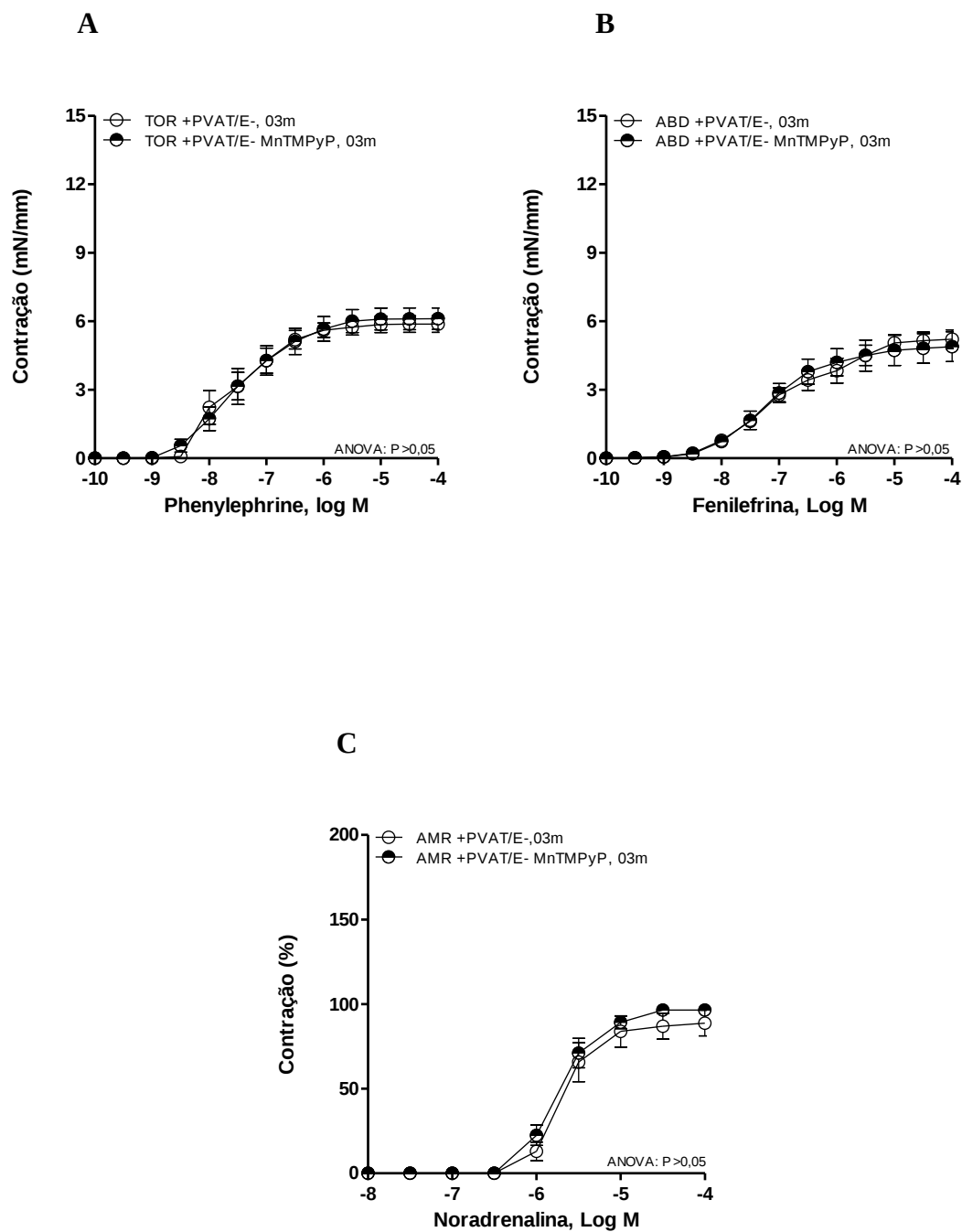


Figura 16. Efeito da pré incubação com MnTMPyP sobre a contração induzida por fenilefrina (A e B) ou noradrenalina (C) em artérias sem endotélio (E-) e com PVAT (+PVAT) de ratos com três 03m de idade. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

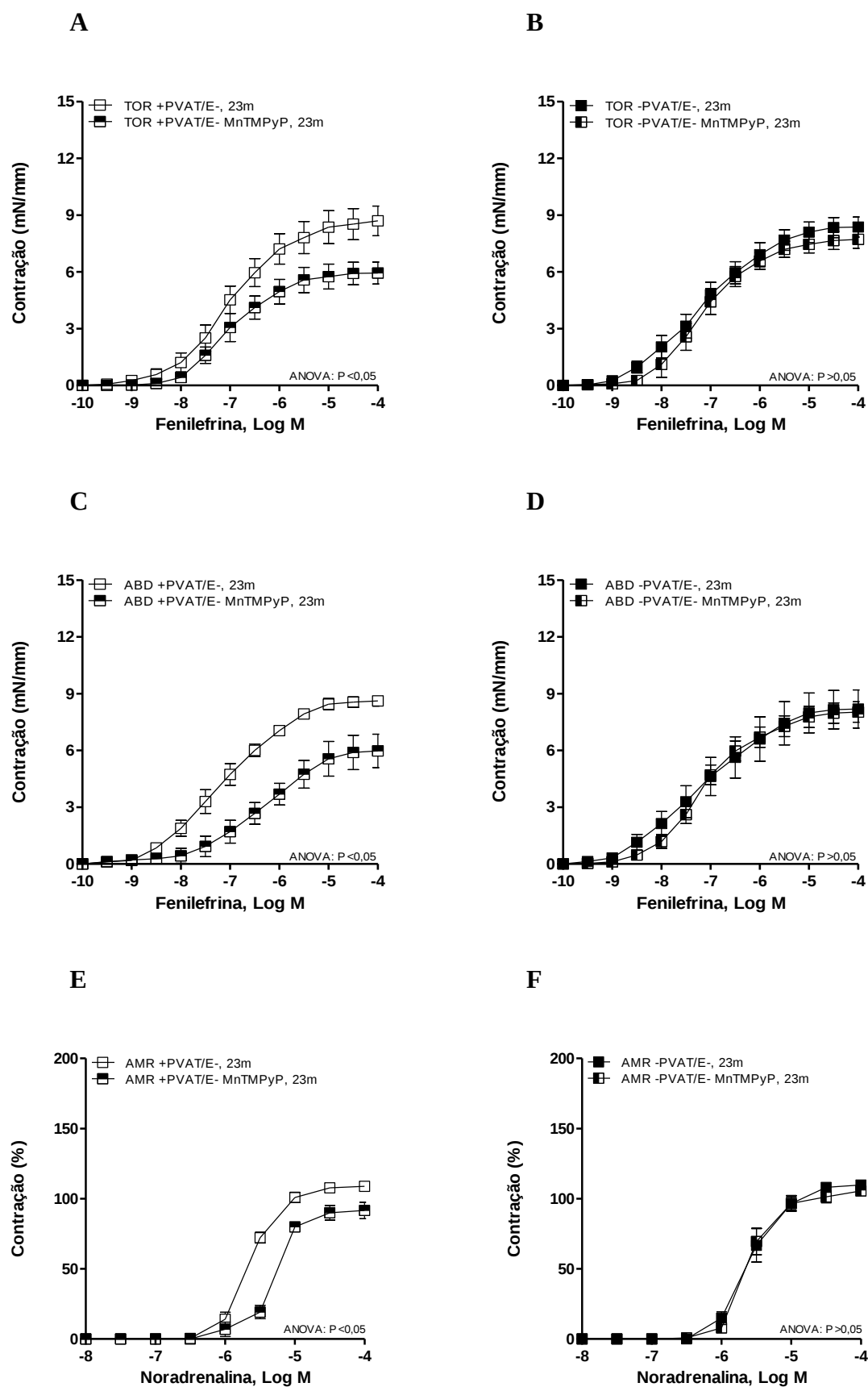


Figura 17. Efeito da pré incubação com MnTMPyP sobre a contração induzida por fenilefrina ou noradrenalina na aorta torácica (A e B), abdominal (C e D) e AMR (E e F) de ratos com 23 meses (23m) de idade, na presença (+PVAT) ou ausência (-PVAT) de tecido adiposo perivascular (PVAT). Os

experimentos foram realizados na ausência de endotélio (E-). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

5.4 EFEITOS DO ENVELHECIMENTO SOBRE A SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS DERIVADAS DO PVAT

As prostaglandinas estão envolvidas com as alterações vasculares no envelhecimento. Neste estudo também foi avaliada a possível participação desta via através da pré-incubação das artérias com indometacina, um inibidor não seletivo da ciclooxigenase. A incubação não modificou a resposta contrátil em vasos de animais jovens (Figura 18A, 18B e 18C). Em artérias oriundas de ratos idosos (23m), houve redução da resposta contrátil nas três artérias avaliadas na +PVAT (Figura 19A, 19C e 19D). Em anéis -PVAT não houve modificação da resposta contrátil (Figura 19B, 19C e 19E).

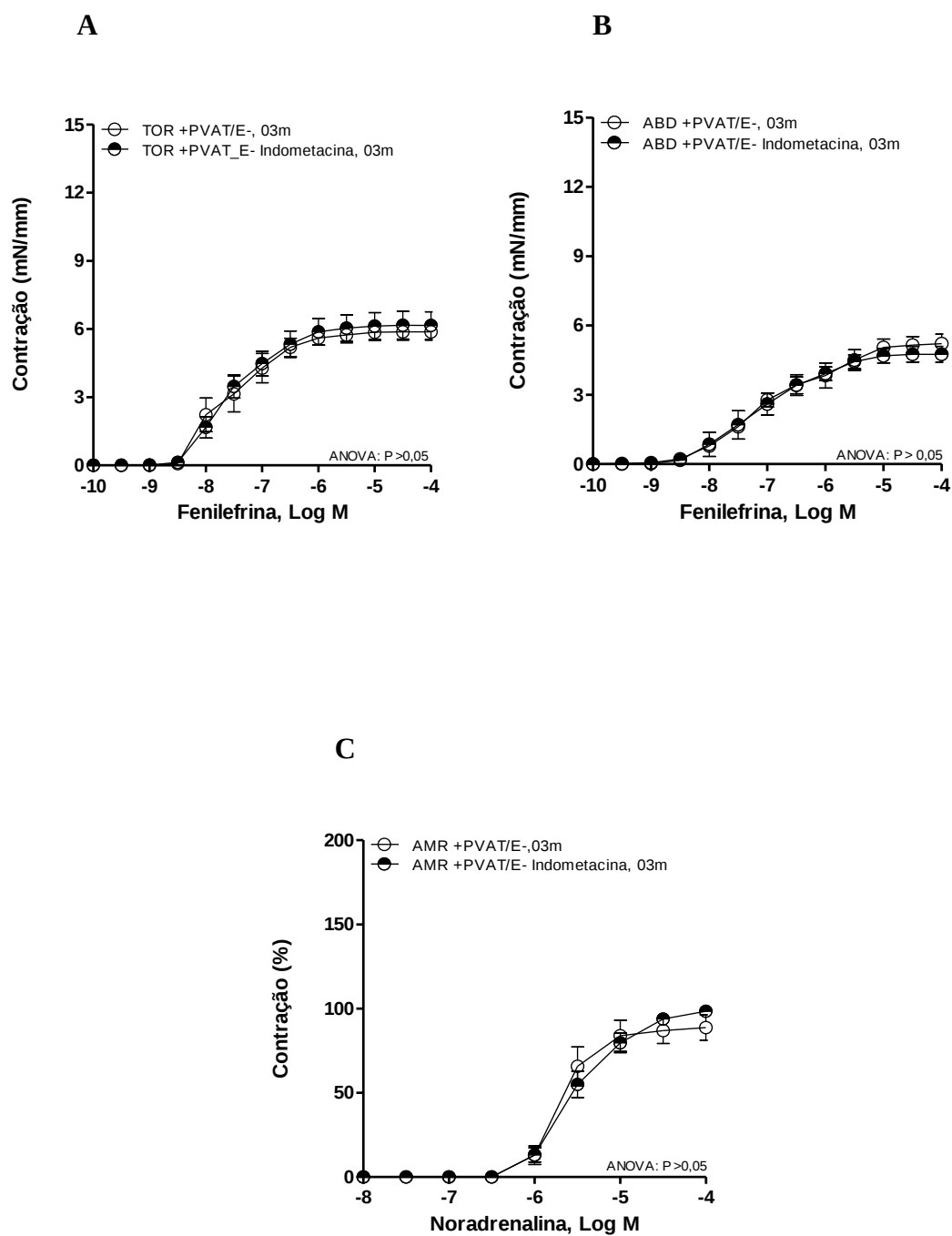


Figura 18. Efeito da pré incubação com indometacina sobre a contração induzida por fenilefrina (A e B) ou noradrenalina (C) em artérias sem endotélio (E-) e com PVAT (+PVAT) de ratos com três 03m de idade. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

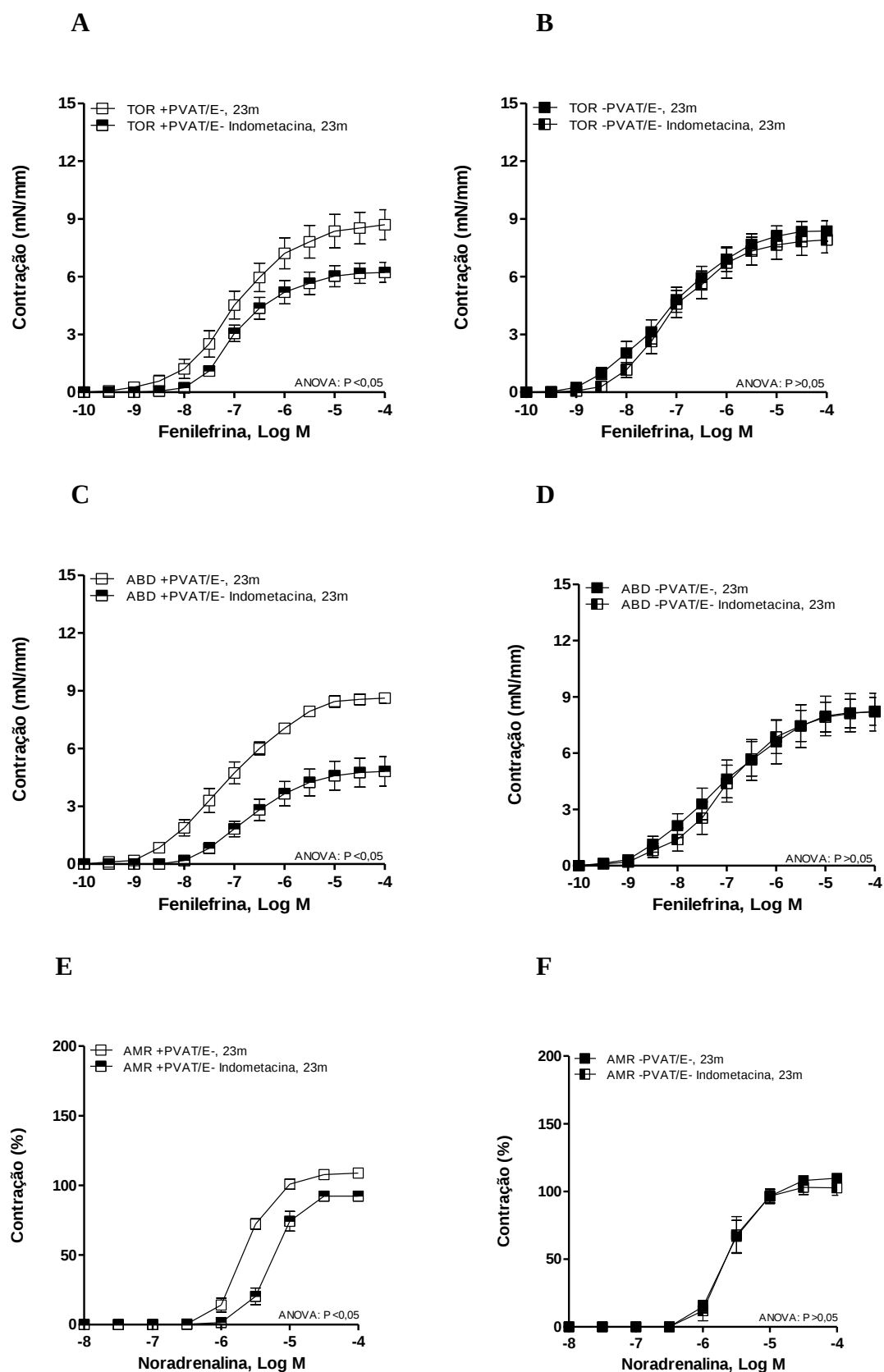


Figura 19. Efeito da pré-incubação com indometacina sobre a contração induzida por fenilefrina ou noradrenalina na aorta torácica (A e B), abdominal (C e D) e AMR (E e F) de ratos com 23 meses (23m) de idade, na presença (+PVAT) ou ausência (-PVAT) de tecido adiposo perivascular (PVAT). Os

experimentos foram realizados na ausência de endotélio (E-). Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. N=6-8 por grupo.

6 DISCUSSÃO

Alterações vasculares associadas à idade tornam o sistema cardiovascular susceptível à doenças mesmo na ausência de fatores de risco adicionais. Recentemente o PVAT foi reconhecido como parte integrante da parede vascular e um modulador de sua estrutura e função. Embora um grande número de evidências funcionais e moleculares a respeito do PVAT tenha sido publicado na última década, o efeito do envelhecimento sobre o PVAT é pouco conhecido. Alguns estudos realizados com ratos idosos mostram que eles apresentam alterações nos depósitos de PVAT marrom e branco (FANG et al., 2009; AGABITI-ROSEI et al., 2017; KONG et al., 2018), contudo, a sua repercussão para a função vascular é pouco compreendida. O presente estudo investigou o efeito do envelhecimento sobre o PVAT e sua modulação na reatividade vascular da aorta torácica, abdominal e AMR de ratos, além de alguns mecanismos envolvidos. O principal achado deste estudo mostra que o envelhecimento leva à perda do efeito anticontrátil do PVAT em aorta torácica e AMR, bem como, parece aumentar a liberação de fatores vasoconstritores nas três artérias avaliadas.

Dados publicados por Soltis & Cassis (1991), Löhn et al., (2002), Verlohren et al., (2004) e Gao et al., (2007), demonstraram que o PVAT da aorta torácica e do leito mesentérico de ratos jovens modula negativamente a resposta contrátil a vários agentes vasoconstritores. Corroborando com esses achados, os resultados do presente estudo demonstram que a presença do PVAT, em anéis de aorta torácica e AMR, reduz a resposta contrátil à FE e NA, respectivamente, quando comparado aos anéis sem PVAT. No entanto, na aorta abdominal o PVAT não exerceu nenhum efeito modulatório detectável sobre a resposta contrátil à FE, semelhante ao observado por Victorio e colaboradores (2016a). Assim, os resultados aqui obtidos reforçam que o PVAT marrom (aorta torácica) e branco (AMR) produz e secreta substâncias que atuam de forma parácrina reduzindo a resposta vasoconstritora.

No PVAT torácico, dois principais alvos são descritos para explicar sua ação anti-contrátil. O primeiro envolve os IK_{ATP} , os quais, quando ativados conduzem ao efluxo de K^+ levando à hiperpolarização das CMLV e à vasodilatação. O segundo, envolve a produção de $\bullet NO$ derivado da eNOS. Este, ao estimular a GC, eleva os níveis intracelulares de GMPc e posterior ativação da PKG, promovendo também vasodilatação.

Em AMR, esse efeito é atribuído principalmente aos IK_V e a produção de H_2O_2 . Este último é capaz de estimular diretamente a GC e levar à vasodilatação. Como relatado anteriormente, o PVAT da aorta abdominal exibe um fenótipo divergente da aorta torácica, bem como, mostra menor biodisponibilidade do $\bullet NO$, avaliado pela fluorescência à diaminofluoreceína, e menor expressão da eNOS (VICTORIO et al., 2016a). Assim a ausência da função anticontrátil pode estar relacionada a tais diferenças, no entanto, seu papel na modulação do tônus vascular não se encontra bem definido.

Em ratos idosos, o PVAT da aorta torácica e AMR não modificou a resposta à FE e NA, respectivamente, tampouco a contração à FE na aorta abdominal. Assim, esses dados confirmam a hipótese inicial do estudo de que o envelhecimento promove a perda do efeito anti-contrátil do PVAT em ratos. A literatura mostra que no PVAT torácico o envelhecimento prejudica a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos (KONG et al., 2018; PAN et al., 2019), alteração em sua morfologia, contribui para seu “clareamento”, com surgimento de adipócitos brancos em meio aos adipócitos marrons (PADILLA et al., 2013). Estas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de um perfil pró-oxidativo e pró-inflamatório no PVAT, o que pode contribuir para a disfunção vascular decorrente do envelhecimento (KONG et al., 2018; PAN et al., 2019). No que diz respeito à produção de fatores vasodilatadores, Fang e colaboradores (2009) demonstraram que o avanço da idade reduz a produção do H_2S , um modulador dos IK_{Ca} e IK_{ATP} , mesmo diante de uma maior expressão da cistationina β -sintase, principal enzima produtora deste mediador. Kong e colaboradores (2018) observaram em aorta de ratos espontaneamente hipertensos, que o envelhecimento promove clareamento do PVAT torácico o qual está associado com uma menor produção de adenosina, um nucleosídeo composto por adenina e ribose com propriedade vasodilatadora independente do endotélio, e uma menor expressão de sua enzima produtora a ecto-5- nucleotidase (CD73). É relatado ainda, que em AMR de camundongo com envelhecimento acelerado (SAMP8), também ocorre redução do efeito anti-contrátil da PVAT (AGABITI-ROSEI et al., 2017). Tomados em conjunto, os resultados do presente estudo corroboram e sugerem que alterações no PVAT decorrentes da idade avançada pode contribuir para a disfunção vascular em ratos idosos.

Alguns trabalhos têm relatado a existência de duas vertentes que correlacionam a perda ou redução do efeito anti-contrátil do PVAT, estas são: uma diminuição na produção de fatores relaxantes e/ou um aumento na produção de fatores contráteis. Tais

alterações estão correlacionadas, dentre outras, com desequilíbrio na produção de $\bullet\text{NO}$, presença de inflamação e EO (SZASZ et al., 2013).

No PVAT o $\bullet\text{NO}$ é produzido a partir da eNOS e iNOS (GIL-ORTEGA et al., 2010; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; XIA et al., 2016; VICTORIO et al., 2016; NÓBREGA et al., 2019; BARP; BENEDET, 2020). Alterações na biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$, envolvendo a eNOS, tem sido associada à sua menor expressão e/ou atividade, redução de seus cofatores e presença de seu estado desacoplado. Xia e colaboradores (2016) demonstraram que a obesidade induzida por dieta em camundongos leva à deficiência de L-arginina e ao desacoplamento da eNOS no PVAT da aorta torácica. Já Victório e colaboradores (2016b), descreveram o estado desacoplado da eNOS no PVAT torácico de ratos após hiperestimulação beta-adrenérgica com isoproterenol durante oito dias. Neste estudo, o desacoplamento estava associado ao aumento dos níveis de $\bullet\text{O}_2^-$, o qual foi reduzido pela incubação com o L-NAME, indicando sua produção por parte da eNOS. Em um trabalho publicado por Gil-Ortega e colaboradores (2010) foi demonstrado que o PVAT do leito mesentérico de camundongos (C57BL/6J) apresentou uma superprodução de $\bullet\text{NO}$ quando submetidos a uma dieta hiperlipídica por oito semanas. Embora o sobrepeso e a obesidade estejam associados a redução do $\bullet\text{NO}$, a superprodução observada no PVAT parece ser um mecanismo compensatório, visando preservar a função vascular. No entanto, em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica por mais de três meses ocorreu redução da biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$, mostrando que a superprodução observada inicialmente é perdida quando os animais são submetidos à dieta por um tempo mais longo (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015).

Assim, no presente estudo foi avaliada a participação da NOS do PVAT sobre a modulação da função vascular de ratos jovens e idosos através da pré-incubação com o L-NAME. Na presença desse inibidor, anéis aórticos (torácico e abdominal) +PVAT de ambos os grupos experimentais tiveram sua resposta contrátil à FE aumentada de maneira significativa. Na AMR, o L-NAME aumentou apenas a contração à NA em animais jovens, atenuando-a em animais idosos. Em anéis -PVAT o L-NAME não modificou a resposta contrátil em nenhum dos grupos avaliados, indicando que seu efeito é mediado pela inibição da síntese do $\bullet\text{NO}$ do PVAT, e não de outra região da parede arterial. Os dados apresentados somados aos encontrados na literatura sugerem que a NOS participa da regulação da função contrátil nas aortas de animais jovens e idosos, mesmo diante da perda do efeito anti-contrátil observada em animais idosos, porém esse efeito foi menor

nas artérias do grupo idoso, como verificado pela dAUC. Na AMR de animais idosos, a redução da resposta contrátil à NA, sugere que a NOS se encontra em sua forma desacoplada, dessa forma a sua inibição contribuiria para uma menor liberação de $\bullet\text{O}_2^-$, levando à redução da resposta contrátil.

Disfunção vascular em indivíduos idosos está associada a níveis aumentados de EROs, dentre elas o $\bullet\text{O}_2^-$. No PVAT, a produção de EROs foi inicialmente relatada por Gao e colaboradores (2007). Esse grupo mostrou que a eletroestimulação de AMR na presença do PVAT aumentou a resposta contrátil por meio da liberação de $\bullet\text{O}_2^-$ produzidos pela NADPH oxidase. Posteriormente, outro estudo também mostrou um aumento dos níveis de $\bullet\text{O}_2^-$ via NADPH oxidase, desta vez mediado pela angiotensina II (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008). Além disso, Aghamohammadzadeh e colaboradores (2015) relataram que a perda da função anticontrátil do PVAT em AMR de animais obesos foi restaurada pela pré-incubação desses vasos com um mimético da SOD. Em conjunto estes dados sugerem que o desequilíbrio entre a síntese e remoção de EROs podem estar envolvidos na disfunção do PVAT. No presente estudo, foi investigada se a perda do efeito anti-contrátil do PVAT em animais idosos esteve relacionada ao aumento dos níveis de teciduais de $\bullet\text{O}_2^-$.

A pré-incubação com MnTMPyP, um mimético da Mn-SOD, não modificou a resposta contrátil nenhuma das artérias +PVAT de animais jovens. No entanto, a resposta contrátil na aorta torácica, abdominal e AMR (todas +PVAT) de ratos idosos foi atenuada na presença do MnTMPyP. Nas artérias -PVAT de ratos idosos a presença do mimético não causou qualquer efeito detectável na resposta contrátil. Deste modo, é possível sugerir que em animais jovens existe equilíbrio entre a produção de $\bullet\text{O}_2^-$ e sua remoção através das defesas antioxidantes. No entanto, as EROs geradas no PVAT de ratos idosos contribuem para a redução da biodisponibilidade do $\bullet\text{NO}$ e aumento da contratilidade das CMLVs cooperando para a perda do seu efeito anticontrátil. Corroborando esses achados, Fleenor e colaboradores (2014), observaram um aumento do $\bullet\text{O}_2^-$ no PVAT torácico de camundongos C57BL6/N aos 26-28 meses de vida, o qual foi associado ao aumento da rigidez aórtica, avaliada através da velocidade da onda de pulso. Após tratamento dos animais com um mimético da SOD, o tempol, os níveis de $\bullet\text{O}_2^-$ foram semelhantes aos de seu controle jovem (4-6 meses). Além deste, o tratamento reverteu também o enrijecimento arterial. Ademais, a síntese de citocinas/quimiocinas pró-inflamatórias foi maior no PVAT do grupo idoso em relação ao jovem. Bailey-Downs e colaboradores

(2012) também mostraram que o PVAT de camundongos C57BL/6 idosos e obesos (24 meses de idade) exibe EO devido à regulação positiva da NADPH oxidase, redução da expressão da eNOS, disfunção endotelial e inflamação vascular em relação aos ratos idosos não obesos, sugerindo que em idosos obesos o PVAT pode representar um fator de risco para o desenvolvimento de DCVs. É importante ressaltar que a ação do MnTMPyP sobre o 'O_2^- gera H_2O_2 , sendo este um fator vasodilator, cabe futuramente investigar se a resposta reduzida na presença do mimético da Mn-SOD é devido à formação deste fator.

Prostanóides vasoconstritores participam da disfunção vascular induzida pelo envelhecimento. Além disso o EO pode induzir aumento da atividade e expressão da COX-2, aumentado ainda mais a produção desses prostanóides, o que leva à produção de mais EROs, tornando um ciclo vicioso. Em conjunto, prostanóides e EROs, contribuem para a redução da vasodilatação dependente do endotélio, aumento das respostas contráteis e para a inflamação em vários leitos vasculares (ADEAGBO et al., 2005; TANG et al., 2007). Um aumento da liberação de fatores contráteis derivados da COX-2 também foi descrito no PVAT (MENDIZÁBAL et al., 2013). Assim, no presente estudo, o envolvimento da COX na perda do efeito anti-contrátil do PVAT de ratos idosos foi investigado através do pré-tratamento dos anéis arteriais com o inibidor não seletivo da COX, a indometacina. Os resultados mostram que não houve diferenças detectáveis nos segmentos vasculares de animais jovens. No entanto, a resposta contrátil na aorta torácica, abdominal e AMR +PVAT de ratos idosos foi reduzida na presença da indometacina, sem qualquer efeito detectável em seus respectivos anéis -PVAT. Esse resultado, portanto, sugere que há um desequilíbrio na síntese de prostanóides no PVAT de ratos idosos, a favor da vasoconstrição, o qual contribui para a perda do seu efeito anticontrátil.

Amor e colaboradores (2008) demonstraram que o PVAT aórtico de ratos idosos exibe um perfil pró-inflamatório, pois superexpressa iNOS, $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$ em relação ao PVAT de ratos jovens. No PVAT da aorta abdominal, Police e colaboradores (2009), mostraram que camundongos obesos, também apresenta aumento na síntese de fatores pró-inflamatórios. No entanto, como dito anteriormente, estes depósitos exibem diferentes fenótipos, os quais influenciam em suas atividades parácrinas (SCHÜTZ et al., 2020). Nesse contexto, quando comparado ao PVAT da aorta abdominal, havia maior expressão e liberação de proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1), receptor de quimicina C tipo 2 (CCR2) e infiltração de macrófagos no PVAT torácico (POLICE et

al., 2009). Corroborando esse achado, Fitzgibbons e colaboradores (2011) mostraram que o PVAT da aorta torácica apresenta maior resistência à infiltração de macrófagos, sugerindo que o PVAT marrom parece ser menos susceptível a processos inflamatórios. Em AMR, Mendizábal e colaboradores (2013) mostraram que o PVAT de ratos com síndrome metabólica exibiu maior atividade para COX-2, e que a inibição desta enzima ou o bloqueio do receptor TP melhorou o relaxamento dependente do endotélio, reforçando este tecido como uma fonte adicional de prostanóides na parede vascular.

Diante dessas evidências, o envelhecimento parece contribuir para a disfunção do PVAT em ratos, possivelmente por um aumento da liberação de fatores vasoconstritores e redução de vasodilatadores, contribuindo para a disfunção da resposta contrátil associada à idade. Outros estudos devem ser realizados para confirmação das vias envolvidas e a elucidação de possíveis novos mecanismos.

7 CONCLUSÃO

Os resultados experimentais apresentados neste estudo demonstram que o envelhecimento promove a perda do efeito anti-contrátil do PVAT marrom e branco (em AMR) em ratos Wistar. Esta perda parece ser decorrente do aumento da síntese de prostanóides e de espécies reativas de oxigênio e redução de óxido nítrico. Estes dados estendem o conhecimento sobre o as ações do envelhecimento sobre o PVAT da aorta torácica, abdominal e mesentérica, com ênfase no seu papel fisiopatológico e contribui para o conhecimento da fisiopatologia vascular associada ao envelhecimento.

REFERÊNCIAS

ADAMCZAK, Marcin; WIECEK, Andrzej. The adipose tissue as an endocrine organ. **Seminars in nephrology**, v. 33, p. 2-13, 2013.

AGABITI-ROSEI, Claudia, et al. Modulation of vascular reactivity by perivascular adipose tissue (PVAT). **Current hypertension reports**, v. 20, n. 5, p. 44, 2018.

AGABITI-ROSEI, Claudia, et al. Effect of long-term treatment with melatonin on vascular markers of oxidative stress/inflammation and on the anticontractile activity of perivascular fat in aging mice. **Hypertension Research**, v. 40, n. 1, p. 41-50, 2017.

AGHAMOHAMMADZADEH, Reza et al. Effects of obesity on perivascular adipose tissue vasorelaxant function: nitric oxide, inflammation and elevated systemic blood pressure. **Journal of vascular research**, v. 52, n. 5, p. 299-305, 2015.

AHIMA, Rexford S.; FLIER, Jeffery S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 8, p. 327-332. 2000.

ALMEIDA, Arthur José Pontes Oliveira de; RIBEIRO, Thais Porto; MEDEIROS, Isac Almeida de. Aging: molecular pathways and implications on the cardiovascular system. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017.

ALMABROUK, Tarek AM et al. Deletion of AMPK α 1 attenuates the anticontractile effect of perivascular adipose tissue (PVAT) and reduces adiponectin release. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3398-3410, 2017.

ALP, Nicholas J.; CHANNON, Keith M. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 2004, 24.3: 413-420.

AMOR, S., et al. Study of insulin vascular sensitivity in aortic rings and endothelial cells from aged rats subjected to caloric restriction: role of perivascular adipose tissue. **Experimental Gerontology**, v. 109, p. 126-136, 2018.

ARAUJO, Hygor N. et al. Perivascular adipose tissue and vascular responses in healthy trained rats. **Life Sciences**, v. 125, p. 79-87, 2015.

ARCHER, Stephen L. et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in human internal mammary artery is 11, 12-epoxyeicosatrienoic acid and causes relaxation by activating smooth muscle BKCa channels. **Circulation**, v. 107, n. 5, p. 769-776, 2003.

ARNER, Erik, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. **Diabetes**, v. 59, n. 1, p. 105-109, 2010.

AWATA, Wanessa MC et al. Perivascular adipose tissue contributes to lethal sepsis-induced vasoplegia in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 863, p. 172706, 2019.

AYALA-LOPEZ, Nadia, et al. Perivascular adipose tissue contains functional catecholamines. **Pharmacology Research & Perspectives**, 2014, 2.3: e00041.

AYALA-LOPEZ, Nadia; THOMPSON, Janice M.; WATTS, Stephanie W. Perivascular adipose tissue's impact on norepinephrine-induced contraction of mesenteric resistance arteries. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 37, 2017.

BADRAN, Mohammad et al. Gestational intermittent hypoxia induces endothelial dysfunction, reduces perivascular adiponectin and causes epigenetic changes in adult male offspring. **The Journal of Physiology**, v. 597, n. 22, p. 5349-5364, 2019.

BAILEY-DOWNS, Lora C., et al. Aging exacerbates obesity-induced oxidative stress and inflammation in perivascular adipose tissue in mice: a paracrine mechanism contributing to vascular redox dysregulation and inflammation. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, v. 68, n. 7, p. 780-792, 2013,

BLANCO-RIVERO, Javier; XAVIER, Fabiano E. Therapeutic Potential of Phosphodiesterase Inhibitors for Endothelial Dysfunction-Related Diseases. **Current Pharmaceutical Design**, 2020.

BARDAWEEL, S. K. et al. Reactive Oxygen Species : the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *The Eurasian Journal of Medicine*, v.50, n.3, p.193–201, 2018.

BARP, Clarissa Germano; BENEDET, Patricia Oliveira; ASSREUY, Jamil. Perivascular adipose tissue phenotype and sepsis vascular dysfunction: Differential contribution of NO, ROS and beta 3-adrenergic receptor. **Life Sciences**, p. 117819, 2020.

BARTON, Matthias, et al. Anatomic heterogeneity of vascular aging: role of nitric oxide and endothelin. **Hypertension**, v. 30, n. 4, p. 817-824, 1997.

BARZILAI, Nir; GUPTA, Gaurav. Interaction between aging and syndrome X: new insights on the pathophysiology of fat distribution. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 892, n. 1, p. 58-72, 1999.

BELTOWSKI, Jerzy et al. Hydrogen-sulfide-mediated vasodilatory effect of nucleoside 5'-monophosphorothioates in perivascular adipose tissue. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 93, n. 7, p. 585-595, 2015.

BEZERRA, Fernanda Carvalho; ALMEIDA, Maria Irismar de; NÓBREGA-THERRIEN, Sílvia Maria. Estudos sobre envelhecimento no Brasil: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 15, n. 1, p. 155-167, 2012.

BECKMAN, Joseph S., et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 4, p. 1620-1624, 1990.

BLACHER, Jacques, et al. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. **Hypertension**, v. 33, n. 5, p. 1111-1117, 1999.

BLOOR, Ian D.; SYMONDS, Michael E. Sexual dimorphism in white and brown adipose tissue with obesity and inflammation. **Hormones and Behavior**, v. 66, n. 1, p. 95-103, 2014.

BORTOLOTTI, Luiz A., et al. The aging process modifies the distensibility of elastic but not muscular arteries. **Hypertension**, v. 34, n. 4, p. 889-892, 1999.

BORDICCHIA, Marica, et al. Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 3, p. 1022-1036, 2012.

BOS, Carina L., et al. Prostanoids and prostanoid receptors in signal transduction. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 36, n. 7, p. 1187-1205, 2004.

BRANDES, Ralf P.; FLEMING, Ingrid; BUSSE, Rudi. Endothelial aging. **Cardiovascular Research**, v. 66, n. 2, p. 286-294, 2005.

BRAVO, Elena et al. Age-related changes in lipid secretion of perfused livers from male Wistar rats donors. **The Journal of Biochemistry**, v. 119, n. 2, p. 240-245, 1996.

BRIONES, Ana M. et al. Adipocytes produce aldosterone through calcineurin-dependent signaling pathways: implications in diabetes mellitus-associated obesity and vascular dysfunction. **Hypertension**, v. 59, n. 5, p. 1069-1078, 2012.

BRIONES, A. M., et al. Ageing affects nitric oxide synthase, cyclooxygenase and oxidative stress enzymes expression differently in mesenteric resistance arteries. **Autonomic and Autacoid Pharmacology**, v. 25, n. 4, p. 155-162, 2005.

BROWN, Nicholas K. et al. Perivascular adipose tissue in vascular function and disease: a review of current research and animal models. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, n. 8, p. 1621-1630, 2014.

BOYDENS, Charlotte; PAUWELS, Bart; VAN DE VOORDE, Johan. Effect of resveratrol and orchidectomy on the vasorelaxing influence of perivascular adipose tissue. **Heart and Vessels**, v. 31, n. 4, p. 608-615, 2016.

BULLOCH, Janette M.; DALY, Craig J. Autonomic nerves and perivascular fat: interactive mechanisms. **Pharmacology & Therapeutics**, v.143, n. 1, p. 61-73, 2014

BURTON, Alan C. Relation of structure to function of the tissues of the wall of blood vessels. **Physiological Reviews**, v. 34, n. 4, p. 619-642, 1954.

BUSSE, Rudi; MÜLSCH, Alexander. Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. **FEBS letters**, v. 265, n. 1-2, p. 133-136, 1990.

BUSSEY, Charlotte E. et al. Obesity-related perivascular adipose tissue damage is reversed by sustained weight loss in the rat. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 7, p. 1377-1385, 2016.

BUSSEY, Charlotte E. et al. β_3 -Adrenoceptor stimulation of perivascular adipocytes leads to increased fat cell-derived NO and vascular relaxation in small arteries. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 18, p. 3685-3698, 2018.

CACANYIOVA, S. et al. The role of perivascular adipose tissue and endogenous hydrogen sulfide in vasoactive responses of isolated mesenteric arteries in normotensive

and spontaneously hypertensive rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 70, n. 2, p. 295-306, 2019.

CARTWRIGHT, Mark J.; TCHKONIA, Tamara; KIRKLAND, James L. Aging in adipocytes: potential impact of inherent, depot-specific mechanisms. **Experimental Gerontology**, v. 42, n. 6, p. 463-471, 2007.

CARVAJAL, Jorge A., et al. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. **Journal of Cellular Physiology**, v. 184, n. 3, p. 409-420, 2000.

CANNON, Barbara; NEDERGAARD, Jan. Yes, even human brown fat is on fire!. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 2, p. 486-489, 2012.

CERMAN, Eren; ERASLAN, Muhsin; CEKIC, Osman. Age-related macular degeneration and Alzheimer disease. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 45, n. 5, p. 1004-1009, 2015.

CERNADAS, María R., et al. Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. **Circulation Research**, 1998, 83.3: 279-286.

CHANNON, K. M.; GUZIK, T. J. MECHANISMS OF SUPEROXIDE PRODUCTION IN HUMAN BLOOD. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 53, n. 4, p. 515-524, 2002.

CHANG, Lin et al. Loss of perivascular adipose tissue on peroxisome proliferator-activated receptor- γ deletion in smooth muscle cells impairs intravascular thermoregulation and enhances atherosclerosis. **Circulation**, v. 126, n. 9, p. 1067-1078, 2012.

CHANG, Hsi-Hsien; SHEI-DEI YANG, Stephen; CHANG, Shang-Jen. Perivascular adipose tissue modulation of neurogenic vasorelaxation of rat mesenteric arteries. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 75, n. 1, p. 21-30, 2020.

CHANG, Lin et al. Loss of perivascular adipose tissue on peroxisome proliferator-activated receptor- γ deletion in smooth muscle cells impairs intravascular thermoregulation and enhances atherosclerosis. **Circulation**, v. 126, n. 9, p. 1067-1078, 2012.

CHATTERJEE, Tapan K., et al. Human coronary artery perivascular adipocytes overexpress genes responsible for regulating vascular morphology, inflammation, and hemostasis. **Physiological Genomics**, v. 45, n. 16, p. 697-709, 2013.

CHATTERJEE, Tapan K. et al. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. **Circulation Research**, v. 104, n. 4, p. 541-549, 2009.

CHIAO, Ying Ann; RABINOVITCH, Peter S. The aging heart. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 9, a025148. 2015.

COSTA, Rafael M. et al. H₂O₂ generated from mitochondrial electron transport chain in thoracic perivascular adipose tissue is crucial for modulation of vascular smooth muscle contraction. **Vascular Pharmacology**, v. 84, p. 28-37, 2016.

COLAÇO A.L., TOSTES R.C.A., FORTES Z.B., CARVALHO M.H.C. Biologia vascular e endotélio. In: CHAGAS, A. C. P., LAURINDO, F. R. M., LIBBY, P., LUZ, P. L. Endotélio e Doenças Cardiovasculares. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016.

COOK, Kathleen Sue et al. Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. **Science**, v. 237, n. 4813, p. 402-405, 1987.

CONTRERAS, G. Andres et al. The distribution and adipogenic potential of perivascular adipose tissue adipocyte progenitors is dependent on sexual dimorphism and vessel location. **Physiological Reports**, v. 4, n. 19, p. e12993, 2016.

CSISZAR, Anna et al. Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 1, p. H13-H20, 2009.

CUTLER, Roy G.; MATTSO, Mark P. Introduction: The adversities of aging. **Ageing Research Reviews**, v. 5, n. 3, p. 221-238, 2006.

CYPESS, Aaron M. et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1509-1517, 2009.

DA COSTA, Rafael Menezes et al. Increased mitochondrial ROS generation mediates the loss of the anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in high-fat diet obese mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3527-3541, 2017.

DASHWOOD, Michael R. et al. Does periadventitial fat-derived nitric oxide play a role in improved saphenous vein graft patency in patients undergoing coronary artery bypass surgery?. **Journal of Vascular Research**, v. 44, n. 3, p. 175-181, 2007.

DAVALLI, Pierpaola, et al. ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.

DEFRONZO, Ralph A. Glucose intolerance and aging: evidence for tissue insensitivity to insulin. **Diabetes**, v. 28, n. 12, p. 1095-1101, 1979.

DEVALLANCE, Evan et al. Aortic dysfunction in metabolic syndrome mediated by perivascular adipose tissue TNF α -and NOX2-dependent pathway. **Experimental Physiology**, v. 103, n. 4, p. 590-603, 2018.

DELP, Michael D., et al. Ageing diminishes endothelium-dependent vasodilatation and tetrahydrobiopterin content in rat skeletal muscle arterioles. **The Journal of Physiology**, 2008, 586.4: 1161-1168.

DEVALLANCE, Evan et al. Exercise training prevents the perivascular adipose tissue-induced aortic dysfunction with metabolic syndrome. **Redox Biology**, v. 26, p. 101285, 2019.

DE SOUZA BRAGA, Luciana et al. Social inequalities on selected determinants of active aging and health status indicators in a large Brazilian city (2003-2010). **Journal of Aging and Health**, v. 28, n. 1, p. 180-196, 2016.

DONATO, Anthony J. et al. The impact of ageing on adipose structure, function and vasculature in the B6D2F1 mouse: evidence of significant multisystem dysfunction. **The Journal of Physiology**, v. 592, n. 18, p. 4083-4096, 2014.

DONATO, Anthony J., et al. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 1, p. H425-H432, 2009.

DONOVAN, J. et al. Coronary artery hypoxic vasorelaxation is augmented by perivascular adipose tissue through a mechanism involving hydrogen sulphide and cystathionine- β -synthase. **Acta Physiologica**, v. 224, n. 4, p. e13126, 2018.

DUSSE, Luci Maria Sant'Ana et al. Nitric oxide revision. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

ELAHI, Dariush et al. Glucose tolerance, glucose utilization and insulin secretion in ageing. **In: Novartis Foundation Symposium**. Chichester; New York; John Wiley; 1999, 2002. p. 222-246.

ELLINSWORTH, David C., et al. Interactions between thromboxane A₂, thromboxane/prostaglandin (TP) receptors, and endothelium-derived hyperpolarization. **Cardiovascular Research**, v. 102, n. 1, p.9-16, 2014.

EL ASSAR, Mariam; ANGULO, Javier; RODRÍGUEZ-MAÑAS, Leocadio. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. **Free Radical Biology and Medicine**, 2013, 65: 380-401.

ERINGA, Etto C.; BAKKER, Wineke; VAN HINSBERGH, Victor WM. Paracrine regulation of vascular tone, inflammation and insulin sensitivity by perivascular adipose tissue. **Vascular Pharmacology**, v. 56, n. 5-6, p. 204-209, 2012.

FANG, Liping et al. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. **Journal of Hypertension**, v. 27, n. 11, p. 2174-2185, 2009.

FARAH, Charlotte; MICHEL, Lauriane YM; BALLIGAND, Jean-Luc. Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease. **Nature Reviews Cardiology**. v. 15, n. 5, p. 292-316, 2018.

FÉSÜS, Gábor et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. **Cardiovascular Research**, v. 75, n. 4, p. 719-727, 2007.

FLEENOR, Bradley S. et al. Superoxide signaling in perivascular adipose tissue promotes age-related artery stiffness. **Aging Cell**, v. 13, n. 3, p. 576-578, 2014.

FRANCESCHI, Claudio et al. Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 908, n. 1, p. 244-254, 2000.

FRIDOVICH, Irwin. The biology of oxygen radicals. **Science**. v. 201, n. 4359, p. 875-880, 1978.

FONSECA-ALANIZ, Miriam H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 216-229, 2006.

FRITZE, Olaf, et al. Age-related changes in the elastic tissue of the human aorta. **Journal of Vascular Research**, v. 49, n. 1, p. 77-86, 2012.

FITZGIBBONS, Timothy P. et al. Similarity of mouse perivascular and brown adipose tissues and their resistance to diet-induced inflammation. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 4, p. H1425-H1437, 2011.

FÖRSTERMANN, Ulrich; SESSA, William C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, v. 33, n. 7, p. 829-837, 2012.

FUNDO DE POPULAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS; FUNDO DE POPULAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Envelhecimento no século XXI: celebração e desafio: resumo executivo. 2012.

GAO, Yu-Jing et al. Perivascular adipose tissue modulates vascular function in the human internal thoracic artery. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 130, n. 4, p. 1130-1136, 2005.

GAO, Yu-Jing. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, n. 21, p. 2185-2192, 2007.

GAO, Yu-Jing et al. Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. **Cardiovascular Research**, v. 71, n. 2, p. 363-373, 2006.

GARCÍA-RUIZ, C.; FERNÁNDEZ-CHECA, J. C. Mitochondrial oxidative stress and antioxidants balance in fatty liver disease. **Hepatol Commun**, v. 2, p. 1425-1439, 2018.

GIL-ORTEGA, Marta et al. Adaptative nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 151, n. 7, p. 3299-3306, 2010.

GÁLVEZ, Beatriz et al. Perivascular adipose tissue and mesenteric vascular function in spontaneously hypertensive rats. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 6, p. 1297-1302, 2006a.

GÁLVEZ-PRIETO, Beatriz et al. Anticontractile effect of perivascular adipose tissue and leptin are reduced in hypertension. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3, p. 103, 2012.

GÁLVEZ, Beatriz et al. Perivascular adipose tissue and mesenteric vascular function in spontaneously hypertensive rats. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 6, p. 1297-1302, 2006.

GÁLVEZ-PRIETO, B., et al. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. **Journal of Endocrinology**, v. 197, n. 1, p. 55-64, 2008.

GLASSOCK, Richard J.; RULE, Andrew D. Aging and the kidneys: anatomy, physiology and consequences for defining chronic kidney disease. **Nephron**, v. 134, n. 1, p. 25-29, 2016.

GESNER, C. Medici Tigurini Historiae Animalium Liber I de Quadrupedibusuiiparis. **Froschauer**, p. 840-844, 1551.

GOLDSTEIN, Sara; CZAPSKI, Gidon. The reaction of $\text{NO}\cdot$ with $\text{O}_2^{\cdot-}$ and $\text{HO}_2^{\cdot-}$: A pulse radiolysis study. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 19, n. 4, p. 505-510, 1995.

GÓMEZ-HERNÁNDEZ, Almudena, et al. Severe brown fat lipodystrophy aggravates atherosclerotic process in male mice. **Endocrinology**, v. 157, n. 9, p. 3517-3528. 2016

GRANT, Ryan W.; DIXIT, Vishwa Deep. Adipose tissue as an immunological organ. **Obesity**, v. 23, n. 3, p. 512-518, 2015.

GREIF, Martin, et al. Pericardial adipose tissue determined by dual source CT is a risk factor for coronary atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 29, n. 5, p. 781-786. 2009

GOLLASCH, Maik; DUBROVSKA, Galyna. Paracrine role for periadventitial adipose tissue in the regulation of arterial tone. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 25, n. 12, p. 647-653, 2004

GONZAGA, Natália A. et al. Perivascular adipose tissue protects against the vascular dysfunction induced by acute ethanol intake: Role of hydrogen peroxide. **Vascular pharmacology**, v. 111, p. 44-53, 2018.

GUPTA, Gaurav et al. Ability of insulin to modulate hepatic glucose production in aging rats is impaired by fat accumulation. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 278, n. 6, p. E985-E991, 2000.

GUZIK, T. et al. Perivascular adipose tissue as a messenger. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, n. 4, p. 591-610, 2007.

HARMAN D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. **Journal of Gerontology**, v.11, n.3, p.298–300, 1956.

HAI-MEI, Liu, et al. Andrographolide protects against lipopolysaccharide-induced vascular hyporeactivity by suppressing the expression of inducible nitric oxide in periaortic adipose. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, 2013, 62.2: 154-159.

HART, Joanne L. Vasorelaxation elicited by endogenous and exogenous hydrogen sulfide in mouse mesenteric arteries. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 393, n. 4, p. 551-564, 2020.

HENRICHOT, Elvire et al. Production of chemokines by perivascular adipose tissue: a role in the pathogenesis of atherosclerosis?. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 12, p. 2594-2599, 2005.

HEYMES, Christophe, et al. Cyclo-oxygenase-1 and- 2 contribution to endothelial dysfunction in ageing. **British Journal of Pharmacology**, v. 131, n. 4, p. 804-810, 2000.

HIGASHI, Yukihiro, et al. Tetrahydrobiopterin improves aging-related impairment of endothelium-dependent vasodilation through increase in nitric oxide production. **Atherosclerosis**, v. 186, n. 2, p.390-395, 2006.

HUANG, Fengyang et al. Effect of losartan on vascular function in fructose-fed rats: the role of perivascular adipose tissue. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 32, n. 2, p. 98-104, 2010.

HIRST, G. D.; EDWARDS, F. R. Sympathetic neuroeffector transmission in arteries and arterioles. **Physiological Reviews**, v. 69, n. 2, p. 546-604, 1989.

HODES, Richard J., et al. Disease drivers of aging. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1386, n. 1, p. 45-68, 2016.

HOLOWATZ, Lacy A.; THOMPSON, Caitlin S.; KENNEY, W. Larry. l-Arginine supplementation or arginase inhibition augments reflex cutaneous vasodilatation in aged human skin. **The Journal of Physiology**, v. 574, n. 2, p. 573-581, 2000.

HOTAMISLIGIL, Gokhan S.; SHARGILL, Narinder S.; SPIEGELMAN, Bruce M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, n. 5091, p. 87-91, 1993.

IBGE, DE INDICADORES SOCIAIS, IBGE Síntese. uma análise das condições de vida da população brasileira 2010. **Estudos e Pesquisas, Informação demográfica e socioeconômica**, 2015.

IGNARRO, Louis J.; KADOWITZ, Philip J. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. **Annual Review of Pharmacology and toxicology**. v. 25, n. 1, p. 171-191, 1985.

IKEOKA, Dimas; MADER, Julia K.; PIEBER, Thomas R. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 1, p. 116-121, 2010.

JAROUDI, Wafa et al. Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: the role of the hippocampus. **Reviews in the Neurosciences**, v. 28, n. 7, p. 705-714, 2017.

KHAN, Sadiya S.; SINGER, Benjamin D.; VAUGHAN, Douglas E. Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans. **Aging Cell**, v. 16, n. 4, p. 624-633, 2017.

KERSHAW, Erin E.; FLIER, Jeffrey S. Adipose tissue as an endocrine organ. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548-2556, 2004.

KONG, Ling-Ran et al. Decrease of perivascular adipose tissue browning is associated with vascular dysfunction in spontaneous hypertensive rats during aging. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 400, 2018.

KÖHN, Carolin et al. Differential effects of cystathionine- γ -lyase-dependent vasodilatory H₂S in periadventitial vasoregulation of rat and mouse aortas. **PloS One**, v. 7, n. 8, 2012.

KLEINERT, Hartmut; ART, Julia; PAUTZ, Andrea. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. In: **Nitric Oxide**. Academic Press, 2010. p. 211-267.

KYLE, U. G. et al. Age-related differences in fat-free mass, skeletal muscle, body cell mass and fat mass between 18 and 94 years. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, n. 8, p. 663-672, 2001.

KOCISZEWSKA, Karolina, et al. What is the source of anticontractile factor released by the pedicle of human internal thoracic artery?. **Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery**, v. 21, n. 3, p. 301-307, 2015.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D. N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 88, n. 11, p. 4651-4655, 1991.

KUK, Jennifer L. et al. Age-related changes in total and regional fat distribution. **Ageing Research Reviews**, v. 8, n. 4, p. 339-348, 2009.

LAKATTA, Edward G.; LEVY, Daniel. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. **Circulation**, v. 107, n. 1, p. 139-146, 2003.

LAMBETH, J. D. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 43, p. 332–347, 2007.

LECOULTRE, Virgile; RAVUSSIN, Eric. Brown adipose tissue and aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 14, n. 1, p. 1-6, 2011.

LEE, Robert MKW et al. Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. **Journal of Hypertension**, v. 27, n. 4, p. 782-790, 2009a.

LEE, Robert MKW et al. Alteration of perivascular adipose tissue function in angiotensin II-induced hypertension. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, n. 11, p. 944-953, 2009b.

LEE, H. J. et al. Metformin prevents vascular prostanoid release alterations induced by a high-fat diet in rats. **Autonomic and Autacoid Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 37-43, 2017.

- LEE, Yuan-Chieh et al. Role of perivascular adipose tissue–derived methyl palmitate in vascular tone regulation and pathogenesis of hypertension. **Circulation**, v. 124, n. 10, p. 1160-1171, 2011a.
- LEE, Robert MKW et al. Mas receptors in modulating relaxation induced by perivascular adipose tissue. **Life Sciences**, v. 89, n. 13-14, p. 467-472, 2011b.
- LEBENDER LF, PRÜNTE L, RUMZHUM NN, AMMIT AJ. Selectively targeting prostanoid E (EP) receptor-mediated cell signalling pathways: Implications for lung health and disease. **Pulm Pharmacol Ther.**, v. 49, p. 75-87, 2018.
- LI, Zhihe, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in the thickened intima of aged rats. **Hypertension**, v. 33, n. 1, p. 116-123, 1999.
- LI, Yongguo et al. Secretin-activated brown fat mediates prandial thermogenesis to induce satiation. **Cell**, v. 175, n. 6, p. 1561-1574. e12, 2018.
- LIMA-COSTA, M. Fernanda et al. The Brazilian longitudinal study of aging (ELSI-BRAZIL): objectives and design. **American journal of epidemiology**, v. 187, n. 7, p. 1345-1353, 2018.
- LIU, Jian, et al. Lysosomal cysteine proteases in atherosclerosis. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, n. 24, v. 8, p. 1359-1366, 2004.
- LOHMANN, Christine et al. Atherosclerotic mice exhibit systemic inflammation in periadventitial and visceral adipose tissue, liver, and pancreatic islets. **Atherosclerosis**, v. 207, n. 2, p. 360-367, 2009.
- LÖHN, MATTHIAS et al. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. **The FASEB Journal**, v. 16, n. 9, p. 1057-1063, 2002.
- LÓPEZ-OTÍN, Carlos et al. The hallmarks of aging. **Cell**, v. 153, n. 6, p. 1194-1217, 2013.
- LU, Chao et al. Alterations in perivascular adipose tissue structure and function in hypertension. **European Journal of Pharmacology**, v. 656, n. 1-3, p. 68-73, 2011a.
- LU, Chao et al. Modulation of vein function by perivascular adipose tissue. **European Journal of Pharmacology**, v. 657, n. 1-3, p. 111-116, 2011b.

LU, Chao et al. Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte-derived angiotensin II. **European Journal of Pharmacology**, v. 634, n. 1-3, p. 107-112, 2010.

LYNCH, Fiona M. et al. Perivascular adipose tissue-derived adiponectin activates BKCa channels to induce anticontractile responses. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 304, n. 6, p. H786-H795, 2013.

MACNEE, William. Is chronic obstructive pulmonary disease an accelerated aging disease?. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13, n. Supplement 5, p. S429-S437, 2016.

MADJID, Mohammad et al. Systemic infections cause exaggerated local inflammation in atherosclerotic coronary arteries: clues to the triggering effect of acute infections on acute coronary syndromes. **Texas Heart Institute Journal**, v. 34, n. 1, p. 11, 2007.

MALINOWSKI, Marcin et al. Perivascular tissue of internal thoracic artery releases potent nitric oxide and prostacyclin-independent anticontractile factor. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, v. 33, n. 2, p. 225-231, 2008.

MALINOWSKI, M. et al. Mechanisms of vasodilatory effect of perivascular tissue of human internal thoracic artery. **Journal Physiol Pharmacol**, v. 64, n. 3, p. 309-16, 2013.

MAENHAUT, Nele; VAN DE VOORDE, Johan. Regulation of vascular tone by adipocytes. **BMC medicine**, v. 9, n. 1, p. 25, 2011.

MAENHAUT, Nele; BOYDENS, Charlotte; VAN DE VOORDE, Johan. Hypoxia enhances the relaxing influence of perivascular adipose tissue in isolated mice aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 641, n. 2-3, p. 207-212, 2010.

MATZ, Rachel L.; ANDRIANTSITOHAINA, Ramaroson. Age-related endothelial dysfunction. **Drugs & Aging**, v. 20, n. 7, p. 527-550, 2003.

MANCUSO, Peter; BOUCHARD, Benjamin. The impact of aging on adipose function and adipokine synthesis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, p. 137, 2019.

MARTINEZ-LEMUS, Luis A. The dynamic structure of arterioles. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 110, n. 1, p. 5-11, 2012.

MAU, Theresa; YUNG, Raymond. Adipose tissue inflammation in aging. **Experimental Gerontology**, v. 105, p. 27-31, 2018.

MARCHESI, Chiara et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome. **Hypertension**, v. 54, n. 6, p. 1384-1392, 2009.

MENDIZÁBAL, Yolanda et al. Vasoactive effects of prostaglandins from the perivascular fat of mesenteric resistance arteries in WKY and SHROB rats. **Life Sciences**, v. 93, n. 25-26, p. 1023-1032, 2013.

MEIJER, Rick I. et al. Perivascular adipose tissue and its role in type 2 diabetes and cardiovascular disease. **Current Diabetes Reports**, v. 11, n. 3, p. 211-217, 2011.

MEYER, Matthias R. et al. Regulation of vascular smooth muscle tone by adipose-derived contracting factor. **PloS One**, v. 8, n. 11, 2013.

MEYER, Yves et al. Thioredoxins and glutaredoxins: unifying elements in redox biology. *Annual review of genetics*, v. 43, p. 335-367, 2009.

MILLER, Elizabeth A.; ALLEN, Donald O. Hormone-stimulated lipolysis in isolated fat cells from “young” and “old” rats. **Journal of Lipid Research**, v. 14, n. 3, p. 331-336, 1973.

MOHAMED-ALI, V.; PINKNEY, J. H.; COPPACK, S. W. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. **International Journal of Obesity**, v. 22, n. 12, p. 1145-1158, 1998.

MIAO, Chao-Yu; LI, Zhi-Yong. The role of perivascular adipose tissue in vascular smooth muscle cell growth. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 3, p. 643-658, 2012.

MITCHELL, Jane A.; KIRKBY, Nicholas S. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 8, p. 1038-1050, 2019.

MORLEY, John E. The metabolic syndrome and aging. **The Journals of Gerontology**, v. 59, n. 2, p. M139-M142, 2004.

MOREIRA, Hicla S., et al. Phosphodiesterase-3 inhibitor cilostazol reverses endothelial dysfunction with ageing in rat mesenteric resistance arteries. **European Journal of Pharmacology**, 822, p. 59-68, 2018.

NACCI, Carmela et al. Infliximab therapy restores adiponectin expression in perivascular adipose tissue and improves endothelial nitric oxide-mediated vasodilation in mice with type 1 diabetes. **Vascular Pharmacology**, v. 87, p. 83-91, 2016.

NARIMIYA, M. et al. Insulin resistance in older rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 246, n. 5, p. E397-E404, 1984.

NAVA, Eduardo; LLORENS, Silvia. The local regulation of vascular function: from an inside-outside to an outside-inside model. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 729, 2019.

NICHOLLS, DAVID G.; LOCKE, Rebecca M. Thermogenic mechanisms in brown fat. **Physiological Reviews**, v. 64, n. 1, p. 1-64, 1984.

NISOLI, Enzo et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. **Science**, v. 310, n. 5746, p. 314-317, 2005.

NÓBREGA, Natália et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide induce anticontractile effect of perivascular adipose tissue via renin angiotensin system activation. **Nitric Oxide**, v. 84, p. 50-59, 2019.

NYBERG, GUDRUN; MELLGREN, GOSTA; SMITH, ULF. Human adipose tissue in culture VI. Effect of age on cell size and lipolysis. **Acta Paediatrica**, v. 65, n. 3, p. 313-318, 1976.

Organização Pan-Americana de Saúde
(https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5661:folha-informativa-envelhecimento-e-saude&Itemid=820), acesso em: dezembro de 2019.

OPIE, L. H. The heart-Physiology from cell to circulation. **Acta Cardiologica**, v. 53, p. 127-127, 1998

ORE, A.; AKINLOIE, A. O. Oxidative stress and antioxidant biomarkers in clinical and experimental models of Non-Alcoholic fatty liver Disease. **Medicina (kaunas)**, v. 55, p. 26, 2019.

O'ROURKE, Michael F.; HASHIMOTO, Junichiro. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 50, n. 1, p. 1-13, 2007.

OUCHI, Noriyuki et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85, 2011.

OUYANG, An; GARNER, Tyler B.; FLEENOR, Bradley S. Hesperidin reverses perivascular adipose-mediated aortic stiffness with aging. **Experimental Gerontology**, v. 97, p. 68-72, 2017.

OZEN, Gulsev, et al. Human perivascular adipose tissue dysfunction as a cause of vascular disease: Focus on vascular tone and wall remodeling. **European Journal of Pharmacology**, 766, p. 16-24. 2015.

OZEN, Gulsev et al. Control of human vascular tone by prostanoids derived from perivascular adipose tissue. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 107, p. 13-17, 2013.

PADILLA, Jaume et al. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 7, p. R543-R552, 2013.

PANENI, Francesco et al. The aging cardiovascular system: understanding it at the cellular and clinical levels. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 69, n. 15, p. 1952-1967, 2017.

PFEIFER, Alexander; HOFFMANN, Linda S. Brown, beige, and white: the new color code of fat and its pharmacological implications. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 55, p. 207-227, 2015.

POLICE, Sara B. et al. Obesity promotes inflammation in periaortic adipose tissue and angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 29, n. 10, p. 1458-1464, 2009.

Population Reference Bureau. Countries with the oldest populations in the world, March 2020. Link: <https://www.prb.org/countries-with-the-oldest-populations/>. Acesso em: Junho de 2020.

PI, Xinchun, et al. NADPH oxidase-generated reactive oxygen species are required for stromal cell-derived factor-1 α -stimulated angiogenesis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, p. 2023-2032, 2014.

PRINS, Johannes B. Adipose tissue as an endocrine organ. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 16, n. 4, p. 639-651, 2002.

RAFIKOV, Ruslan, et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity. **Journal of Endocrinology**. v. 210, n. 3, p. 271-284, 2011.

RAMIREZ, J. G.; O'MALLEY, E. J.; HO, W. S. V. Pro-contractile effects of perivascular fat in health and disease. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3482-3495, 2017.

REAVEN, G. M. et al. Effect of age on glucose tolerance and glucose uptake in healthy individuals. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 37, n. 8, p. 735-740, 1989.

REIFENBERGER, Matthew S. et al. Perivascular fat alters reactivity of coronary artery: effects of diet and exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 12, p. 2125, 2007.

RESHI, Mohammad Latif; SU, Yi-Che; HONG, Jiann-Ruey. RNA viruses: ROS-mediated cell death. *International journal of cell biology*, v. 2014, 2014.

RAJSHEKER, Srinivas et al. Crosstalk between perivascular adipose tissue and blood vessels. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 191-196, 2010.

RAVUSSIN, Eric; GALGANI, José E. The implication of brown adipose tissue for humans. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, p. 33-47, 2011.

RHODIN, Johannes AG. Architecture of the vessel wall. **Comprehensive Physiology**, p. 1-31, 2011.

RODRÍGUEZ-MAÑAS, Leocadio, et al. Endothelial dysfunction in aged humans is related with oxidative stress and vascular inflammation. **Aging Cell**, v. 8, n. 3, p. 226-238, 2009.

ROSEI, Claudia Agabiti et al. Blockade of the renin–angiotensin system in small arteries and anticontractile function of perivascular adipose tissue. **Journal of Hypertension**, v. 33, n. 5, p. 1039-1045, 2015.

SARTORE, Saverio et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. **Circulation Research**, v. 89, n. 12, p. 1111-1121, 2001.

SANTHANAM, Lakshmi, et al. Arginase and vascular aging. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, n. 5, p. 1632-1642, 2008.

SANTHANAM, Lakshmi, et al. Inducible NO synthase–dependent S-nitrosylation and activation of arginase1 contribute to age-related endothelial dysfunction. **Circulation Research**, v. 101, n. 7, p. 692-702, 2007.

SANTILLI, F., et al. Oxidative stress drivers and modulators in obesity and cardiovascular disease: from biomarkers to therapeutic approach. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 582-595, 2015.

SAXTON, Sophie N. et al. Role of sympathetic nerves and adipocyte catecholamine uptake in the vasorelaxant function of perivascular adipose tissue. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 38, n. 4, p. 880-891, 2018.

SAXTON, Sophie N. et al. Perivascular adipose tissue contributes to the modulation of vascular tone in vivo. **Journal of Vascular Research**, v. 56, n. 6, p. 320-332, 2019.

SCHIEBER, Michael; CHANDEL, Navdeep S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current Biology**, 2014, 24.10: R453-R462.

SCHLEIFENBAUM, Johanna et al. Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and hydrogen sulfide. **Journal of Hypertension**, v. 28, n. 9, p. 1875-1882, 2010.

SCOTT-BURDEN, Timothy; VANHOUTTE, Paul M. The endothelium as a regulator of vascular smooth muscle proliferation. **Circulation**. v. 87, n. 5S, p. 51-55, 1993.

SCHULZE-BAUER, Christian AJ; REGITNIG, Peter; HOLZAPFEL, Gerhard A. Mechanics of the human femoral adventitia including the high-pressure response.

American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, v. 282, n. 6, p. H2427-H2440, 2002.

SCHÜTZ, Eva, et al. Age-Dependent and-Independent Effects of Perivascular Adipose Tissue and Its Paracrine Activities during Neointima Formation. **International. journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 282, 2020.

SCHWARZ, Petra M.; KLEINERT, Hartmut; FÖRSTERMANN, Ulrich. Potential functional significance of brain-type and muscle-type nitric oxide synthase I expressed in adventitia and media of rat aorta. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 19, n. 11, p. 2584-2590, 1999.

SCHOSSERER, Markus et al. Age-induced changes in white, brite, and brown adipose depots: a mini-review. **Gerontology**, v. 64, n. 3, p. 229-236, 2018.

SCHROETER, Marco R. et al. Leptin-dependent and leptin-independent paracrine effects of perivascular adipose tissue on neointima formation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 5, p. 980-987, 2013.

SCHWARTZ, Robert S. et al. Body fat distribution in healthy young and older men. **Journal of Gerontology**, v. 45, n. 6, p. M181-M185, 1990.

SCUTERI, Angelo, et al. Endothelial function and arterial stiffness in normotensive normoglycemic first-degree relatives of diabetic patients are independent of the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 5, p. 349-356, 2008.

SENA, Laura A.; CHANDEL, Navdeep S. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. **Molecular cell**, v. 48, n. 2, p. 158-167, 2012.

SHIMIZU, Ipppei; YOSHIDA, Yohko; MINAMINO, Tohru. Pathological role of adipose tissue dysfunction in cardio-metabolic disorders. **International Heart Journal**, p. 14-401, 2015.

SILVER, Frederick H.; HORVATH, Istvan; FORAN, David J. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. **Critical Reviews™ in Biomedical Engineering**, v. 29, n. 3, 2001.

SMITH, Robert Emrie; HORWITZ, Barbara A. Brown fat and thermogenesis. **Physiological Reviews**, v. 49, n. 2, p. 330-425, 1969.

SOLTIS, Edward E.; CASSIS, Lisa A. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. **Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice**, v. 13, n. 2, p. 277-296, 1991.

SPANN, Stephen J.; OTTINGER, Mary Ann. Longevity, metabolic disease, and community health. In: Progress in molecular biology and translational science. **Academic Press**, p. 1-9, 2018.

STENMARK, Kurt R. et al. Role of the adventitia in pulmonary vascular remodeling. **Physiology**, v. 21, n. 2, p. 134-145, 2006.

STENMARK, Kurt R., et al. The adventitia: essential regulator of vascular wall structure and function. **Annual Review of Physiology**, v. 75, p. 23-47, 2013.

SINGH, Nivedita, et al. Ageing is associated with impairment of nitric oxide and prostanoid dilator pathways in the human forearm. **Clinical Science**, v. 102, n. 5, p. 595-600, 2002.

SUN, Xiaodong et al. Effect of high free fatty acids on the anti-contractile response of perivascular adipose tissue in rat aorta. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 63, p. 169-174, 2013.

SUN, Dong, et al. Reduced release of nitric oxide to shear stress in mesenteric arteries of aged rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 286, n. 6, p. H2249-H2256, 2004.

SZASZ, Theodora; WEBB, R. Clinton. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. **Clinical Science**, v. 122, n. 1, p. 1-12, 2012.

TAKAOKA, Minoru et al. Endovascular injury induces rapid phenotypic changes in perivascular adipose tissue. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 30, n. 8, p. 1576-1582, 2010.

TAMER, Norma Liliana; PETRIZ, Graciela. A qualidade de vida dos idosos. Agustín Requejo Osório e Fernando Cabral Pinto (coords.), *As Pessoas Idosas. Contexto Social e Intervenção Educativa*, Lisboa, Instituto Piaget, cap. VI, p. 181-223, 2007.

TANG, E. H. C., et al. Calcium and reactive oxygen species increase in endothelial cells in response to releasers of endothelium-derived contracting factor. **British Journal of Pharmacology**, 2007, 151.1: 15-23.

TANG, Eva HC; VANHOUTTE, Paul M. Gene expression changes of prostanoid synthases in endothelial cells and prostanoid receptors in vascular smooth muscle cells caused by aging and hypertension. **Physiological Genomics**, v. 32, n. 3, p. 409-418, 2008.

TANG, Eva HC; VANHOUTTE, Paul M. Prostanoids and reactive oxygen species: team players in endothelium-dependent contractions. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 122, n. 2, p. 140-149, 2009.

TCHKONIA, Tamara et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. **Aging Cell**, v. 9, n. 5, p. 667-684, 2010.

TESAURO, M., et al. Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. **Journal of Internal Medicine**, v. 281, n. 5, p. 471-482, 2017.

TIMIRAS, Paola S. (Ed.). Physiological basis of aging and geriatrics. **CRC Press**, 2007.

TODA, Noboru. Age-related changes in endothelial function and blood flow regulation. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 133, n. 2, p. 159-176, 2012.

TRAMUJAS VASCONCELLOS NEUMANN, Lycia; ALBERT, Steven M. Aging in Brazil. **The Gerontologist**, v. 58, n. 4, p. 611-617, 2018.

United Nations, World Population Ageing 2019: Highlights. New York: Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2019 (<https://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WorldPopulationAgeing2019-Highlights.pdf>).

VAN DER LOO, Bernd, et al. Signalling processes in endothelial ageing in relation to chronic oxidative stress and their potential therapeutic implications in humans. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 3, p. 305-310, 2009.

VAN DER LOO, Bernd, et al. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 192, n. 12, p. 1731-1744, 2000.

VAN GUILDER, Gary P., et al. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. **Hypertension**, v. 50, n. 2, p. 403-409, 2007.

VANHOUTTE, Paul M., et al. Thirty years of saying NO: sources, fate, actions, and misfortunes of the endothelium-derived vasodilator mediator. **Circulation Research**, v. 119, n. 2, p. 375-396, 2016.

VANHOUTTE, P. M.; EBER, B. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 103, n. 14, p. 405-411, 1991.

VASTA, Valeria, et al. Identification of a specific transport system for L-arginine in human platelets. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 206, n. 3, p. 878-884, 1995.

VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VERAS, Renato P.; RAMOS, Luiz Roberto; KALACHE, Alexandre. Crescimento da população idosa no Brasil: transformações e consequências na sociedade. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, p. 225-233, 1987.

VERLOHREN, Stefan et al. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. **Hypertension**, v. 44, n. 3, p. 271-276, 2004.

VICTORIO, Jamaira A. et al. Different anti-contractile function and nitric oxide production of thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 295, 2016.

VICTORIO, Jamaira A. et al. Spironolactone prevents endothelial nitric oxide synthase uncoupling and vascular dysfunction induced by β -adrenergic overstimulation: role of perivascular adipose tissue. **Hypertension**, v. 68, n. 3, p. 726-735, 2016b.

VIRDIS, Agostino et al. Tumour necrosis factor- α participates on the endothelin-1/nitric oxide imbalance in small arteries from obese patients: role of perivascular adipose tissue. **European Heart Journal**, v. 36, n. 13, p. 784-794, 2015.

WAGNER, Karl-Heinz, et al. Biomarkers of aging: from function to molecular biology. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 338, 2016.

WALKER, Gillian E. et al. The pathophysiology of abdominal adipose tissue depots in health and disease. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 19, n. 1, p. 57-74, 2014.

WANG, Julie C.; BENNETT, Martin. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. **Circulation Research**, v. 111, n. 2, p. 245-259, 2012.

WHO. World Health Organization. Global Survey on Geriatrics in the Medical Curriculum. Geneva, World Health Organization, 2002. (https://www.who.int/ageing/projects/en/alc_global_survey_tegeme.pdf) acesso em: dezembro de 2019.

WHO. World Health Organization. Folha informativa – Envelhecimento e Saúde, 2018. (https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5661:folha-informativa-envelhecimento-e-saude&Itemid=820), acesso em: dezembro de 2019.

WOLIN, Michael S. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 20, n. 6, p. 1430-1442, 2000.

WONG, Michael Sze-Ka; VANHOUTTE, Paul Michel. COX-mediated endothelium-dependent contractions: from the past to recent discoveries. **Acta Pharmacologica Sinica**, 2010, 31.9: 1095-1102.

WHITLOCK, Matthew C.; HUNDLEY, W. Gregory. Noninvasive imaging of flow and vascular function in disease of the aorta. **JACC: Cardiovascular Imaging**, v. 8, n. 9: p. 1094-1106, 2015.

XAVIER, Fabiano E. Nitrergic perivascular innervation in health and diseases: focus on vascular tone regulation. **Acta Physiologica**, 2020, e13484.

XIA, Ning et al. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced obese mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 1, p. 78-85, 2016.

YANG, Yang-Ming, et al. eNOS uncoupling and endothelial dysfunction in aged vessels. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 5, p. H1829-H1836, 2009.

YE, Maoqing, et al. Developmental and functional characteristics of the thoracic aorta perivascular adipocyte. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 76, n. 4, p. 777-789, 2019.

ZHAO, Yingzi; VANHOUTTE, Paul M.; LEUNG, Susan WS. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of pharmacological sciences*, v. 129, n. 2, p. 83-94, 2015.

ZHANG, Yiying et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-432, 1994.

ZENG, Zhao-Hua et al. The functional changes of the perivascular adipose tissue in spontaneously hypertensive rats and the effects of atorvastatin therapy. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 31, n. 4, p. 355-363, 2009.

ZIEMAN, Susan J.; MELENOVSKY, Vojtech; KASS, David A. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 5, p. 932-943, 2005.

ZHOU, Yijiang, et al. Reactive oxygen species in vascular formation and development. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2013, p. 1-14, 2013.