

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 02/09/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Gustavo Augusto Ferreira Mota

**Proteoma miocárdico de ratos com disfunção
cardíaca por estenose aórtica supraválvular atenuada
pelo treinamento físico aeróbio**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Emérito. Antonio Carlos Cicogna

Botucatu

2021

Gustavo Augusto Ferreira Mota

**Proteoma miocárdico de ratos com disfunção cardíaca por
estenose aórtica supravalvar atenuada pelo treinamento
físico aeróbico**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Emérito. Antonio Carlos Cicogna

Botucatu
2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Mota, Gustavo Augusto Ferreira.

Proteoma miocárdico de ratos com disfunção cardíaca por estenose aórtica supravalvar atenuada pelo treinamento físico aeróbico / Gustavo Augusto Ferreira Mota. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Antonio Carlos Cicogna
Capes: 40101002

1. Disfunção ventricular. 2. Estenose da valva aórtica. 3. Miocárdio. 4. Proteoma. 5. Exercício físico. 6. Ratos .

Palavras-chave: Disfunção ventricular; Estenose aórtica supravalvar; Miocárdio; Proteoma; Treinamento físico aeróbico.

Epígrafe

O conhecimento serve para encantar as pessoas, não para humilhá-las.

Mario Sergio Cortella

Dedicatória



Dedico este trabalho a minha mãe Elza Paula da Mota, que ainda hoje, não mede esforços para que eu tenha a oportunidade de ter um bom estudo, ensinando como seguir o melhor caminho para que eu possa ser feliz neste plano. Mulher, professora, mãe guerreira que abriu mão de sua vida para cuidar dos irmãos portadores de esquizofrenia, aliás, que ainda cuida com tanto amor e carinho da tia Maria a primogênita da família. Infelizmente o tio Evaldo nos deixou em 2016, mas sendo muito bem cuidado até o último minuto pela senhora, tenha certeza, sua passagem para o plano espiritual foi de forma tranquila e serena. Saiba que a senhora é o meu maior exemplo de ser humano a ser seguido no plano terrestre, e seus ensinamentos me conduzem para que eu possa ser uma pessoa melhor e tentar fazer a diferença na vida das pessoas, sempre tentando ajudar o próximo, mesmo que isso signifique sacrificar um tempo que eu não tenho. Sou e serei eternamente grato por tudo que você dedicou a mim, muitas vezes abrindo mão de seus próprios objetivos para que eu alcance os meus. Eu tenho muito orgulho de ser seu filho e muita admiração pela mãe que tenho. Obrigado por tudo. Amo muito você!

Agradecimentos



Este trabalho, por fins acadêmicos, é um trabalho individual, no entanto ele não seria realizado sem a ajuda de pessoas que colaboraram, direta ou indiretamente, para que este objetivo fosse concretizado. A colaboração, não apenas em termos científicos e práticos, mas também como um incentivo, um conselho, uma palavra de motivação, uma conversa, compreensão, etc. Todas as pessoas listadas abaixo são especiais, espero não ter esquecido ninguém.

Agradeço a Deus, pois nele encontro a força que necessito para continuar a minha jornada, neste plano terrestre e almejando o plano espiritual.

Ao meu pai Sebastião Ferreira, que sempre me ajudou da maneira dele para que eu chegasse onde estou hoje. Gostaria de lhe agradecer por tudo o que o senhor fez por mim. Amo você!

À minha irmã Janaina Mota, que mesmo longe sempre me ajudou de forma direta e indireta, torcendo pelo meu crescimento pessoal. Gostaria de lhe agradecer por acreditar em mim. Espero que Deus continue bençoando sua família. Amo você!

A minha esposa Mariana Gatto, que além de companheira de jornada terrestre e também companheira de laboratório e trabalho. Colaborou para a realização deste estudo, além de seu incentivo, amizade, paciência, carinho e por me apoiar nas horas mais difíceis e compartilhar os momentos de felicidade. Acredite, sem você não teria conseguido realizar este trabalho! Amo você!

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Cicogna, por ter aceitado me orientar. Agradeço pelos aconselhamentos no sentido de ser uma pessoa íntegra, ética, disciplinada e competente naquilo que faz, sempre me incentivando a sair da zona de conforto e ir em busca de outros desafios para meu crescimento intelectual e pessoal. Espero que o senhor saiba que nosso relacionamento interpessoal não está ligado somente ao trabalho, te considero como um segundo pai, sempre me ensinando a melhor forma de encarar os problemas da vida pessoal, conjugal, trabalho, etc. Acredito que tive a melhor formação que poderia ter na pós-graduação, mesmo com todas as nossas discussões

acaloradas, teimosia por ambas as partes, mas como o senhor sempre me ensinou, é por meio da diferença de pensamentos que há crescimento intelectual. Espero poder trabalhar e conviver com o senhor por um longo tempo, e após nossa estadia neste plano, nos encontremos no plano espiritual (mesmo que o senhor não acredite nisso). Obrigado por tudo!

Agradeço ao Prof. Dr. Mário Sugizaki, o qual tive a oportunidade de conviver no decorrer da minha iniciação científica e que me incentivou a ingressar na Pós-Graduação, e me incentiva até hoje a continuar na carreira acadêmica. Obrigado por acreditar em mim!

Ao amigo e companheiro de jornada científica, Sérgio Borges, que foi fundamental para a realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos do *Lab. Cic* e agregados, Vitor Loureiro, Paula Gripa, Dijon Campos, Loreta De Tomasi, Luana Pagan, Lidiane, Leiliane, Patricinha, Felipe Damato, Felipe Sarzi, Cristina Gregolin, Jéssica, Mariane, obrigado pela ajuda e convivência. Em especial a Danielle Vileigas, pelo auxílio relacionado à proteômica. Obrigado!

À Profa. Dra. Lucilene Delazari, por me receber no seu laboratório no CEVAP-Unesp, para o preparo das amostras para a realização da proteômica e pelas valiosas contribuições científicas.

À Profa. Dra. Silméia Bazan, por se disponibilizar em fazer as análises ecocardiográficas.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, sempre disponível para conversar sobre as análises de bioestatística.

À Profa. Dra. Marília Buzallaf e Larissa, da Faculdade de Odontologia da USP de Bauru, pela realização do sequenciamento peptídico.

Ao Prof. Dr. Daniel Martins, da Universidade Estadual de Campinas, e sua aluna Lígia por nos auxiliarem com a utilização do *Software* Progenesis.

As professoras Dra. Suzana Tanni e Dra. Marina Okoshi, por terem me dado a oportunidade de trabalhar como coordenador de estudo clínico, e pelas conversas e ensinamentos.

Aos Upecliners, Luana, Luiz, Neto, Leiliane, Andressa, Letícia, Priscila, Tati, Ricardo e Danilo Loucura, obrigado pelas conversas e pela convivência.

Aos meus supervisores do estágio docência na enfermagem Professores (as), Dra. Silvia Bocchi, Dra. Meire Novelli e Dr. Rodrigo Jansen, obrigado por todos os ensinamentos e pela confiança depositada em mim. Aproveito para agradecer a minha colega de estágio docência Tayomara, obrigado por compartilhar suas experiências e pensamentos com minha pessoa.

A minha supervisora do PRAT na função pulmonar, Enfª. Estefânia Franco, obrigado por me ajudar na reaproximação da enfermagem e pelos puxões de orelha, seus ensinamentos foram fundamentais para a minha visão da profissão hoje em dia.

Aos professores, Dr. Marcos Minicucci e Dra. Fabiana Souza, pelas orientações prestadas no exame geral de qualificação.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental da FMB (UNIPLEX): José Georgette, que não mede esforços em nos ajudar. Muito obrigado Zé! E em especial ao meu eterno amigo Paulo Dionísio, o famoso Paulinho, cara do bem, sempre alegre e disposto a ajudar o próximo. Infelizmente não poderá ver a minha defesa de tese, partiu cedo para o plano espiritual, mais uma vida ceifada pela COVID-19. É meu amigo, gostaria de te agradecer por tudo que você fez por mim, sempre me motivando e querendo o meu bem. Escrevo essas palavras com dor no coração por não ter mais a oportunidade de ir a sua casa, para tomarmos uma cerveja e conversamos sobre todos

os assuntos possíveis. Muitas vezes não acredito que você se foi, mas sei que está torcendo por mim e pela Mari, de onde você estiver. Até um dia, obrigado por tudo.

Aos funcionários da secretaria de Pós-Graduação, Ana Maria Mengue e Janete Herculano Nunes, pela presteza na resolução dos problemas inerentes ao curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica - CNPq, pelas bolsas e auxílio concedidos. Bolsa de Doutorado (processo: 140406/2017-4), fundamental para que eu pudesse realizar este trabalho. Auxílio Universal (processo:421058/2018-8), fomento no qual não teríamos condições financeiras de realizar este projeto. Bolsa produtividade nível 1D de meu Orientador (processo:310284/2019-8), que julgo ser um reconhecimento pelo seu amor e dedicação a este projeto, e aos mais de 50 anos dedicados a ciência básica nesta instituição de pesquisa, ensino e extensão.

A todos, que de forma direta ou indireta, colaboraram para a realização deste estudo, os meus sinceros agradecimentos!

Resumo



Resumo

Diferentes autores analisaram o efeito do treinamento físico (TFa) no coração patológico de roedores com estenose aórtica (EAo). Enquanto alguns autores não detectaram alteração no desempenho, outros mostraram que o TF promoveu atenuação da disfunção diastólica e/ou sistólica. Entretanto, estes trabalhos não analisaram os mecanismos envolvidos nos efeitos benéficos desta terapêutica. Desta forma, o objetivo deste estudo é investigar por meio do proteoma miocárdico os mecanismos envolvidos na atenuação da disfunção ventricular pelo TFa em ratos com EAo. Ratos *Wistar* foram divididos em quatro grupos: Sham, Sham exercitado (ShamTF), EAo e EAo exercitado (EAoTF). O TFa consistiu em cinco sessões de corrida, em esteira por semana, por 16 semanas. A análise estatística foi realizada por ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis e teste de Goodman. Todos os resultados foram discutidos ao nível de significância de 5%. Ratos EAoTF apresentaram maior capacidade funcional, menor concentração de lactato sanguíneo, atenuação estrutural e funcional cardíaca quando comparados com o grupo EAo. A análise do proteoma miocárdico evidenciou aumento de proteínas relacionadas a via glicolítica, estresse oxidativo, inflamação e diminuição da beta-oxidação no grupo EAo vs Sham. O grupo EAoTF aumentou a expressão de uma proteína relacionada à biogênese mitocondrial e diminuiu proteínas intrincadas com o estresse oxidativo e inflamação. A avaliação das vias fisiológicas e patológicas hipertróficas por Western Blot, não mostrou diferença estatística entre os grupos avaliados, exceto para a p-p38, que aumentou no grupo EAo. Os dados proteômicos foram validados para proteínas relacionadas ao metabolismo lipídico e glicolítico. A análise do proteoma nos permitiu mostrar que o exercício físico atenua o estresse oxidativo, inflamação e acarreta melhoria no processo de biogênese mitocondrial. Os resultados encontrados nos fazem inferir que estes são os possíveis mecanismos relacionados com a cardioproteção gerada pelo treinamento físico aeróbio neste modelo de sobrecarga pressórica.

Palavras-chave: Proteoma, miocárdio, disfunção ventricular, treinamento físico aeróbio, estenose aórtica supralvar, ratos.

Abstract



Abstract

Different authors have analyzed the effect of physical training (ET) on the pathological heart of rodents with aortic stenosis (AS). While some authors did not detect changes in performance, others showed that ET promoted attenuation of diastolic and/or systolic dysfunction. However, these studies did not analyze the mechanisms involved in the beneficial effects of this therapy. Thus, the aim of this study is to investigate through myocardial proteome the mechanisms involved in the attenuation of ventricular dysfunction by ET in rats with AS. Wistar rats were divided into four groups: C-Sed, Control exercised (C-Ex), AS and AS exercised (AS-Ex). The ET consisted of five treadmill running sessions per week for 16 weeks. Statistical analysis was performed by ANOVA or Kruskal-Wallis test and Goodman test. All results were discussed at a significance level of 5%. AS-Ex rats had higher functional capacity, lower blood lactate concentration, structural and functional cardiac attenuation when compared to AS group. The myocardial proteome analysis showed an increase in proteins related to the glycolytic pathway, oxidative stress, inflammation and a decrease in beta-oxidation in AS vs C-Sed group. The AS-Ex group increased the expression of a protein related to mitochondrial biogenesis and decreased proteins intricate with oxidative stress and inflammation. The evaluation of physiological and pathological hypertrophic pathways by Western Blot did not show any statistical difference between the groups evaluated, except for p-p38, which increased in the AS group. Proteomic data were validated for proteins related to lipid and glycolytic metabolism. Proteome analysis allowed us to show that physical exercise attenuates oxidative stress, inflammation and improves the mitochondrial biogenesis process. The results found make us infer that these are the possible mechanisms related to the cardioprotection generated by physical training in this pressure overload model.

Keywords: Proteome, myocardium, ventricular dysfunction, aerobic exercise training, supraaortic stenosis, rat.

Lista de abreviaturas

Lista de Abreviaturas

- A'** - Velocidade do anel mitral durante a contração atrial
- AE** - Diâmetro do átrio esquerdo
- AE/AO** - Relação entre átrio esquerdo e diâmetro da aorta
- AKT** - Proteína quinase B
- ANOVA** - Análise de variância
- AT** - Átrio
- BHADH** - beta-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
- CS** - Citrato sintase
- CK** - Creatina quinase
- DDVE** - Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo
- DP** - Distância percorrida
- E/A** - Razão entre as ondas E e A do fluxo diastólico transmitral
- E/E'** - Relação entre a velocidade de fluxo transmitral e a velocidade de deslocamento do anel mitral durante o enchimento ventricular precoce
- E'** - Velocidade de deslocamento do anel mitral durante o enchimento ventricular precoce
- EDPP** – Espessura diastólica da parede posterior
- EAO** - Estenose aórtica supralvar
- EAO_{TF}** - Estenose aórtica supralvar submetido ao treinamento físico aeróbio
- Enc Meso VE (%)** - Porcentagem de encurtamento mesocárdico do ventrículo esquerdo
- ERK** - Quinase regulada por sinal extracelular
- ERPVE** - Espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo
- FC** - Frequência cardíaca
- FE** - Fração de ejeção
- FABP3** - Proteína de ligação de ácido graxo
- GO** - Ontologia genética
- IGF1** - Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
- IC** - Insuficiência cardíaca
- JNK** - c-Jun N-terminal quinase

KEGG - Enciclopédia de genes e genomas de Kyoto

KOBAS - Sistema de anotação baseado em ontologia KEGG

LDH - Lactato desidrogenase

MAPK - Proteína quinase ativada por mitógeno

mTOR - Alvo mamífero da rapamicina

MCAD - Acil-CoA desidrogenase de cadeia média

Onda E - Pico de velocidade do fluxo transvalvar mitral na fase precoce de enchimento

Onda A - Pico de velocidade do fluxo de enchimento tardio.

p38 MAPK - p38 proteína quinase ativadas por mitógeno

PANTHER - Análise de proteínas por meio de relações evolutivas

PCF - Peso corporal final

PI3K - Fosfatidilinositol 3-quinase

PK- Piruvato quinase

RC - Remodelação cardíaca

REVIGO - Sumariza e visualiza longas listas de termos de ontologia genética

Sham - Controle operado

ShamTF - Controle operado submetido ao treinamento físico aeróbio

STRING - Análise de enriquecimento funcional de redes de interação de proteínas

S - Velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral.

TFa - Treinamento físico aeróbio

TT - Tempo total

TRIV - Tempo de relaxamento isovolumétrico

TDE - Tempo de desaceleração da onda E

VD - Ventrículo direito

VE - Ventrículo esquerdo

VENNY - Ferramenta de desenho de diagramas

VEPP - Velocidade de encurtamento da parede posterior do ventrículo esquerdo

VEX - Velocidade de exaustão

Lista de Tabelas e Figuras

Lista de Tabelas

Tabela 1. Adaptação a esteira ergométrica	37
Tabela 2. Protocolo de treinamento físico aeróbio	39
Tabela 3. Teor de água dos tecidos cardíaco, hepático e pulmonar	56
Tabela 4. Avaliação ecocardiográfica dos 4 grupos após 2 semanas de cirurgia	57
Tabela 5. Avaliação ecocardiográfica após 18 semanas de cirurgia	58
Tabela 6. Estrutura macroscópica cardíaca <i>post mortem</i>	59
Tabela 7. Função biológica das proteínas do grupo EAO vs Sham	62
Tabela 8. Função biológica das proteínas do grupo EAoTF vs EAO	63

Lista de Figuras

Figura 1. Delineamento experimental.....	36
Figura 2. Teste de esforço progressivo.....	38
Figura 3. Capacidade funcional dos animais	53
Figura 4. Determinação da concentração de lactato sanguíneo.....	54
Figura 5. Sinais clínico-patológicos de insuficiência cardíaca	55
Figura 6. Agrupamento de dados proteômicos EAoTF vs EAo	60
Figura 7. Agrupamento de dados proteômicos EAo vs Sham	61
Figura 8. Rede de interação proteína-proteína EAo vs Sham	64
Figura 9. Rede de interação proteína-proteína EAoTF vs EAo	65
Figura 10. Análise de enriquecimento de ontologia gênica EAo vs Sham	67
Figura 11. Análise de enriquecimento de ontologia gênica EAoTF vs EAo	68
Figura 12. Expressão proteica da via hipertrófica patológica miocárdica.....	69
Figura 13. Expressão proteica da via hipertrófica fisiológica miocárdica	70
Figura 14. Verificação dos resultados proteômicos por Western blotting	72
Figura 15. Verificação dos resultados proteômicos por espectrofotometria	73
Figura 16. Visão geral dos efeitos da estenose sobre o proteoma de cardiomiócitos ...	86
Figura 17. Visão geral dos efeitos exercício sobre o proteoma de cardiomiócitos	90

Sumário



SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
Lista de abreviaturas	
Lista de tabelas	
Lista de figuras	
1. INTRODUÇÃO	26
2. OBJETIVOS.....	32
2.1. Objetivo Geral.....	32
2.2. Objetivos específicos	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. Animais	34
3.2. Delineamento experimental.....	34
3.3. Indução de estenose aórtica supralvar.....	35
3.4. Treinamento físico aeróbio	36
3.4.1. Aclimação	36
3.4.2. Teste de esforço máximo progressivo	37
3.4.3. Protocolo de treinamento	38
3.4.4. Determinação da concentração de lactato sanguíneo	40
3.5. Avaliação dos sinais de insuficiência cardíaca.....	40
3.6. Teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático	40
3.7. Caracterização da remodelação cardíaca.....	41
3.7.1. Análise estrutural e funcional por ecocardiograma.....	41
3.7.2. Análise macroscópica <i>post mortem</i>	42
3.8. Análise proteômica <i>shotgun label-free</i>	43
3.8.1. Extração de proteínas.....	43
3.8.2. Quantificação de proteínas	44
3.8.3. Digestão <i>in solution</i>	44
3.8.4. Sequenciamento peptídico por nLC-MS/MS.....	44
3.8.5. Análise quantitativa <i>label free</i>	45
3.8.6. Análise de bioinformática.....	46

3.8.7. Validação por Western Blotting	46
3.8.7.1. Extração das proteínas	46
3.8.7.2. Eletroforese em gel	47
3.8.7.3. Transferência e identificação das proteínas	47
3.9. Validação por Espectrofotometria	48
3.10. Análise estatística	49
4. RESULTADOS	51
4.1. Análise da capacidade funcional	51
4.1.1. Determinação da concentração de lactato sanguíneo	53
4.2. Avaliação dos sinais de insuficiência cardíaca.....	54
4.3. Teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático	54
4.4. Caracterização da remodelação cardíaca.....	55
4.4.1. Análise da estrutura e função cardíaca in vivo	55
4.4.2 Análise macroscópica do coração post mortem	57
4.5. Proteômica quantitativa por LC-MS/MS Label-free	58
4.5.1. Análise de bioinformática.....	61
4.6. Expressão das proteínas ligadas as vias de hipertrofia fisiológica e patológica	68
4.7. Validação das proteínas diferencialmente expressas por Western Blotting	71
4.8. Validação das proteínas diferencialmente expressas por espectrofotometria	72
5. DISCUSSÃO	75
5.1. Efeitos do treinamento sobre a capacidade funcional e níveis séricos do lactato .	75
5.2. Efeitos do treinamento nos dados anatômicos post mortem e sinais clínicos de IC.....	76
5.3. Efeitos do treinamento físico na estrutura e função cardíaca	77
5.4. Efeito da estenose aórtica supravalvar sobre o proteoma miocárdico	78
5.4.1. Metabolismo energético	78
5.4.2. Estresse oxidativo e inflamação	80
5.4.3. Arquitetura estrutural	83
5.4.4. Homeostase celular	84
5.5. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre o proteoma miocárdico	87
5.5.1. Metabolismo energético	87
5.5.2. Estresse oxidativo e inflamação	88

5.5.3. Arquitetura estrutural	89
6. CONCLUSÕES	92
7. REFERÊNCIAS	94
8. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	106
9. ANEXOS.....	127

Introdução



1. INTRODUÇÃO

Embora tenha ocorrido nos últimos anos significativo avanço na biomedicina cardiovascular, as doenças cardíacas ainda representam marcante problema de saúde pública, com alta prevalência, elevados custos financeiros e relevante taxa de mortalidade (1). Estes indicadores, apontam para a importância do entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na gênese dessas patologias, o que poderá resultar no desenvolvimento de possíveis novas terapias.

O coração, em resposta a um determinado estímulo, passa por um processo denominado remodelação cardíaca (RC), definido como alteração na expressão do genoma, resultando em modificações moleculares, celulares e intersticiais e manifestado clinicamente como alterações no tamanho, forma e função do coração (2). Embora, presente do nascimento à vida adulta, o termo RC é predominantemente empregado para descrever as respostas patológicas como, isquemia miocárdica, sobrecarga de volume e pressão. É um processo adaptativo que visa manter o funcionamento hemodinâmico adequado do coração com intuito de preservar a homeostasia corpórea. Entretanto, na dependência das características do agente agressor e do receptor, a RC pode, a curto ou longo prazo, acarretar distúrbio funcional, sistólico e/ou diastólico e, posteriormente, insuficiência cardíaca (IC).

Trabalhos abrangendo seres humanos com RC seriam úteis na elucidação dos diferentes mecanismos envolvidos na disfunção cardiovascular; entretanto, por limitações éticas, vários modelos experimentais vêm sendo utilizados para o estudo da remodelação, por exemplo, a sobrecarga pressórica como, estenose de artéria renal (3), aorta abdominal (4,5), torácica (6–8), e ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (9). Em nossa instituição vem sendo utilizado o modelo de estenose aórtica supravalvar (EAO) em ratos, que tem como característica promover o desenvolvimento gradual de hipertrofia ventricular esquerda (10–12). Inicialmente, a sobrecarga pressórica é leve e acentua-se progressivamente à medida que os roedores crescem, assemelhando-se, parcialmente, a estenose aórtica no ser humano. Investigadores do nosso grupo tem utilizado este modelo experimental visando compreender aspectos moleculares, metabólicos, estruturais e funcionais durante o seu processo evolutivo, da agressão à IC (8,10,13–16). Os achados funcionais desses estudos mostraram que os animais com EAO

apresentam na fase inicial disfunção diastólica e melhoria do desempenho sistólico do ventrículo esquerdo (VE) e, posteriormente, deterioração da função sistólica e IC.

Diferentes mecanismos fisiopatológicos podem contribuir para a transição da disfunção para a IC em animais com hipertrofia patológica, cujo panorama tem sido caracterizado por alterações, **1) na biologia do miócito**: acoplamento excitação-contracção-relaxamento; expressão de genes fetais; sistema beta adrenérgico; hipertrofia; miocitólise; citoesqueleto e metabolismo energético; **2) no miocárdio**: perda de miócitos (necrose, apoptose ou autofagia) e modificação na matriz extracelular (fibrose e degradação); **3) na geometria da câmara**: hipertrofia concêntrica ou excêntrica; aumento da esfericidade e incompetência valvar (17–19). A diminuição da densidade capilar, aumento da estimulação dos sistemas adrenérgico, renina-angiotensina-aldosterona, liberação de mediadores inflamatórios, estresse oxidativo e desbalanço da expressão gênica miocárdica por micro RNAs são considerados os geradores determinantes da hipertrofia patológica (18,20).

Tratamentos farmacológicos (21–25) e não farmacológicos (26–32) são utilizados com o objetivo de atenuar a falência ventricular em indivíduos com remodelação cardíaca patológica. No âmbito das terapias não medicamentosas para as doenças cardiovasculares, destaca-se o treinamento físico que consiste em uma atividade programada, sistematizada e repetitiva com objetivo pré-estabelecido de aprimorar as valências físicas (26–28,30–33). A importância do TF nos dias atuais é relacionada a sua atribuição, a qual resulta na melhoria do condicionamento físico (34), na prevenção de doenças (35), na diminuição de distúrbios vinculados com a senescência (36) e por abrandar sintomas de doenças crônicas (36–39).

De acordo com estas evidências, o TF é de fundamental importância para melhorar a qualidade de vida, a longevidade e diminuir as taxas de morbimortalidade populacional (33,38–40). A prática do TF tem sido relacionada com a diminuição da ocorrência de eventos cardíacos fatais e atenuação dos fatores de risco cardiovascular (34,41–44); neste sentido, diretrizes internacionais e nacionais passaram a recomendar o TF para pacientes com IC classes I, II, III, de acordo com a *New York Heart Association* (45,46). É importante ressaltar que o tipo e a magnitude da resposta cardiovascular dependem das características do exercício executado, ou seja; tipo, duração, intensidade, e a massa muscular envolvida (37,40,47). Com relação aos tipos de

treinamento, destacam-se o resistido e o aeróbio, amplamente estudados por pesquisadores (48). O TF resistido tem como exemplo a musculação, que visa o aumento de força e resistência muscular (40). O segundo, representado pela corrida, visa a melhoria da aptidão cardiovascular (captação, transporte e utilização do oxigênio), consistindo em um exercício dinâmico, repetitivo e de longa duração, o qual utiliza vários grupos musculares simultaneamente (37).

Para atender o aumento da demanda energética muscular em resposta ao TF, uma série de adaptações nos órgãos periféricos ocorrem no sentido de ajustar o comportamento do organismo às necessidades dos grupos musculares envolvidos no treinamento (47,48). Neste sentido, o corpo apresenta uma série de ajustes ao **efeito agudo do TF**, como ativação do sistema nervoso simpático e inibição do sistema nervoso parassimpático (49). As alterações do sistema nervoso autônomo promove mudanças nos fatores envolvidos na regulação da função cardíaca (frequência de batimentos, contratilidade, pré-carga e pós-carga) e do tônus vascular (venoso e arterial) com o intuito de promover o aumento da oferta de sangue para os órgãos periféricos, principalmente para a musculatura esquelética (49,50). Em resposta ao **efeito crônico do TF**, o aumento da atividade simpática, liberação de hormônios e fatores de crescimento decorrente de cada sessão de TF agudo, resulta em hipertrofia cardíaca fisiológica, caracterizada por um estado funcional normal e alteração harmoniosa entre os diferentes componentes da estrutura do miocárdio, isto é, miócito, matriz extracelular e sistema vascular (51). O processo de hipertrofia cardíaca normaliza o estresse/força parietal e conseqüentemente a deformação miocárdica, acarretando funcionamento adequado do coração (51,52). Em razão do treinamento físico promover alteração harmoniosa dos componentes do miocárdio estimulando a via PI3K/AKT/MTOR, o mesmo pode ser utilizado como estratégia para se contrapor à via patológica JNK/P38/ERK, responsável pela remodelação mal adaptativa do coração (48,53).

Em nossa instituição, diferentes investigadores analisaram o efeito do exercício físico na RC, utilizando roedores com cardiopatia por sobrecarga pressórica induzida por EAO e disfunção ventricular (11,15,16,26–28,54,55). Enquanto alguns investigadores não detectaram alteração no desempenho do coração (11,54), outros mostraram que o TF promove atenuação da disfunção diastólica (16,26–28,55) ou sistólica (15,55);

entretanto, os trabalhos que mostraram os efeitos benéficos não avaliaram os mecanismos moleculares e celulares envolvidos na performance cardíaca (26–28) ou estudaram os mesmos de forma isolada (15,16,55). Os pesquisadores que investigaram as maquinarias, analisaram a participação do sistema β -adrenérgico (16), trânsito de cálcio (55), proliferação de cardiomiócitos e sistema renina angiotensina (15). Somente Silva, VL (55) constatou que a melhoria da função estava relacionada com o fluxo de cálcio intracelular; os outros autores verificaram que o benefício funcional não foi consequente dos elementos acima reportados. A participação do metabolismo dos lipídios na atenuação da disfunção cardíaca está sendo investigada como outro possível fator de proteção cardíaca pelo TF (56). Os trabalhos realizados (15,16,55) e o em andamento (56) são investigações específicas, ou seja, analisaram ou analisam, como referido acima, os possíveis mecanismos de forma pontual, por exemplo, proliferação de cardiomiócitos (15).

Atualmente a comunidade científica vem realizando grandes esforços na elucidação das maquinarias envolvidos nas diversas doenças, com a finalidade de melhor entendimento, desenvolvimento de novas terapias e biomarcadores para as patologias. O avanço tecnológico em instrumentações analíticas está contribuindo para uma melhor compreensão dos elementos participantes nos processos fisiopatológicos. Neste sentido, uma das abordagens de pesquisa que tem se destacado nos últimos anos é a abordagem proteômica (57). Esta estratégia tem sido utilizada nos últimos anos no âmbito da saúde, resultando em número crescente de publicações científicas (58). Investigações nesta área buscam identificar as mudanças globais nas proteínas de corações patológicos, visando fornecer informações necessárias para a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento e progressão das doenças cardiovasculares (59–64). Embora estas buscas sejam emergentes (64), trabalhos com esta abordagem vem sendo conduzidos em pesquisas clínicas cardiológicas (65–67) e em modelos experimentais de cardiopatias como, infarto do miocárdio (68,69), hipertensão arterial sistêmica (70,71), diabetes mellitus (72,73), obesidade (74,75) e constrição aórtica (76–82). Neste último modelo as seguintes áreas são enfocadas: mitocôndria (78,79,82), gotículas lipídicas (76) tecido miocárdico (77,80) e proteínas fosforiladas (81). O proteoma cardíaco também tem sido analisado, sob o efeito do TF,

em roedores saudáveis (83–87) e cardiopatas por obesidade (88), infarto do miocárdio (89), hipertensão arterial sistêmica (90,91) e diabetes mellitus (92).

Embora existam várias pesquisas que analisaram o proteoma do tecido cardíaco na constrição aórtica (76–81), não foram encontrados estudos que avaliaram os efeitos da cardioproteção gerada pelo treinamento físico aeróbio em ratos com EAo, utilizando a abordagem proteômica. Neste projeto almeja-se investigar por esta técnica analítica, o perfil das proteínas miocárdicas de ratos com EAo e disfunção ventricular atenuada pelo TF, enfocando a via fisiológica (PI3K/AKT/MTOR) e patológica (JNK/P38/ERK) no processo hipertrófico. Neste trabalho hipotetizamos que o TF altera o panorama das proteínas do miocárdio, promove aumento na expressão das envolvidas na via fisiológica e diminui na patológica no coração remodelado por sobrecarga pressórica. Acreditamos que a mudança do perfil do proteoma está relacionada com a atenuação da disfunção cardíaca, por contra regular os estímulos patológicos envolvidos na EAo.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Em conclusão, a análise do proteoma revelou várias proteínas alteradas no miocárdio de ratos com disfunção cardíaca por estenose aórtica que estão envolvidas em processos biológicos importantes, principalmente no metabolismo energético lipídico e glicolítico. Os resultados mostraram que o treinamento físico aeróbio atenua o estresse oxidativo, inflamação e melhora o processo da biogênese mitocondrial. Essas mudanças podem estar associadas com a atenuação da disfunção cardíaca nos animais com EAo. Importante ressaltar que a hipótese deste trabalho foi confirmada em parte, pois acreditávamos que a estimulação das vias de sinalização da hipertrofia fisiológica pelo exercício contra regularia os estímulos hipertróficos patológicos, atenuando o processo de remodelação, o que não foi constatado neste trabalho. Entretanto, visualizamos que o treinamento interfere sobre outros geradores determinantes da hipertrofia patológica, atenuando o status redox, inflamação e melhorando o estado energético mitocondrial. Este estudo nos permitiu compreender melhor os possíveis mecanismos relacionados com a cardioproteção gerada pelo exercício físico, possibilitando o surgimento de novos alvos terapêuticos.

Referências

7. REFERÊNCIAS

1. Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2021;143(8):e254–743.
2. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling - concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(3):569–82.
3. Okoshi MP, Matsubara LS, Franco M, Cicogna AC, Matsubara BB. Myocyte necrosis is the basis for fibrosis in renovascular hypertensive rats. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol*. 1997;30(9):1135–44.
4. Bregagnollo EA, Rodrigues MA, Montenegro MR, Curi PR, Tucci PJ. Temporal evolution of structural and functional parameters of cardiac hypertrophy induced in Wistar rats by abdominal aorta constriction. *Arq Bras Cardiol*. 1986;46(1):9–17.
5. Rodrigues MA, Bregagnollo EA, Montenegro MR, Tucci PJ. Coronary vascular and myocardial lesions due to experimental constriction of the abdominal aorta. *Int J Cardiol*. 1992;35(2):253–7.
6. Weinberg EO, Schoen FJ, George D, Kagaya Y, Douglas PS, Litwin SE, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis. *Circulation*. 1994;90(3):1410–22.
7. Gonçalves G, Zornoff LAM, Ribeiro HB, Okoshi MP, Cordaro FRS, Okoshi K, et al. Blockade of renin-angiotensin system attenuates cardiac remodeling in rats undergoing aortic stenosis. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(4):304–8.
8. Bregagnollo EA, Zornoff LAM, Okoshi K, Sugizaki M, Mestrinel MA, Padovani CR, et al. Myocardial contractile dysfunction contributes to the development of heart failure in rats with aortic stenosis. *Int J Cardiol*. 2007;117(1):109–14.
9. Pagan LU, Gomes MJ, Damatto RL, Lima ARR, Cezar MDM, Damatto FC, et al. Aerobic Exercise During Advance Stage of Uncontrolled Arterial Hypertension. *Front Physiol*. 2021;12:675778.
10. Casquel De Tomasi L, Salomé Campos DH, Grippa Sant’Ana P, Okoshi K, Padovani CR, Masahiro Murata G, et al. Pathological hypertrophy and cardiac dysfunction are linked to aberrant endogenous unsaturated fatty acid metabolism. *PLoS One*. 2018;13(3):e0193553.
11. Reyes DRA, Gomes MJ, Rosa CM, Pagan LU, Zanati SG, Damatto RL, et al. Exercise during transition from compensated left ventricular hypertrophy to heart failure in aortic stenosis rats. *J Cell Mol Med*. 2019;23(2):1235–45.
12. Mendes O de C, Campos DHS de, Damatto RL, Sugizaki MM, Padovani CR, Okoshi K, et al. Cardiac remodeling: serial analysis and indexes for early detection of ventricular dysfunction. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94(1):62–70.
13. Sant’Ana PG, Batah SS, Leão PS, Teodoro WR, de Souza SLB, Ferreira Mota GA, et al. Heart remodeling produced by aortic stenosis promotes cardiomyocyte apoptosis mediated by collagen V imbalance. *Pathophysiol Off J Int Soc Pathophysiol*. 2018;25(4):373–9.
14. Silveira CFSMP, Campos DHS, Freire PP, Deus AF, Okoshi K, Padovani CR, et al. Importance of SERCA2a on early isolated diastolic dysfunction induced by supra-aortic stenosis in rats. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol*. 2017;50(5):e5742.
15. Mota GAF, de Souza SLB, da Silva VL, Gatto M, de Campos DHS, Sant’Ana PG, et al. Cardioprotection Generated by Aerobic Exercise Training is Not Related to the Proliferation of Cardiomyocytes and Angiotensin-(1-7) Levels in the Hearts of Rats with

- Supravalvar Aortic Stenosis. *Cell Physiol Biochem*. 2020;54(4):719–35.
16. de Souza SLB, Mota GAF, da Silva VL, Sant’Ana PG, Vileigas DF, de Campos DHS, et al. Adjustments in β -Adrenergic Signaling Contribute to the Amelioration of Cardiac Dysfunction by Exercise Training in Supravalvular Aortic Stenosis. *Cell Physiol Biochem*. 2020;54(4):665–81.
17. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(1):30–8.
18. Adamo L, Mann DL. Alterations in Ventricular Structure: Role of Left Ventricular Remodeling and Reverse Remodeling in Heart Failure. In: *Heart Failure: A Companion to Braunwald’s Heart Disease*. 3rd Editio. Saunders Company; 2016. 172–192 p.
19. Hasenfuss G, Mann DL. Pathophysiology of Heart Failure. In: *Braunwald’s Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 11th Editi. Saunders Company; 2019. 422–460 p.
20. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, et al. A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1–16.
21. Miyamoto MI, del Monte F, Schmidt U, DiSalvo TS, Kang ZB, Matsui T, et al. Adenoviral gene transfer of SERCA2a improves left-ventricular function in aortic-banded rats in transition to heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(2):793–8.
22. Moreira VO, Pereira CA, Silva MO, Felisbino SL, Cicogna AC, Okoshi K, et al. Growth hormone attenuates myocardial fibrosis in rats with chronic pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36(3):325–30.
23. Rinne P, Ruohonen ST, Ruohonen S SE. Pharmacological treatment with a melanocortin analogue protects against pressure-overload-induced cardiac hypertrophy. *FASEB J*. 2013;27:652–619.
24. Wong K, Boheler KR, Petrou M, Yacoub MH. Pharmacological modulation of pressure-overload cardiac hypertrophy: changes in ventricular function, extracellular matrix, and gene expression. *Circulation*. 1997;96(7):2239–46.
25. Xu XH, Xu J, Xue L, Cao HL, Liu X, Chen YJ. VEGF attenuates development from cardiac hypertrophy to heart failure after aortic stenosis through mitochondrial mediated apoptosis and cardiomyocyte proliferation. *J Cardiothorac Surg*. 2011;6(54):1–9.
26. de Souza PAT, de Souza RWA, Soares LC, Piedade WP, Campos DHS, Carvalho RF, et al. Aerobic training attenuates nicotinic acetylcholine receptor changes in the diaphragm muscle during heart failure. *Histol Histopathol*. 2015;30(7):801–11.
27. Pacagnelli FL, Okoshi K, Campos DHS, Souza RWA PC, Carvalho RF, Aguiar AF DPM. Physical training attenuates cardiac remodeling in rats with supra-aortic stenosis. *Exp Clin Cardiol*. 2014;20(8):3887–905.
28. Souza RWA, Piedade WP, Soares LC, Souza PAT, Aguiar AF, Vechetti-Júnior IJ, et al. Aerobic exercise training prevents heart failure-induced skeletal muscle atrophy by anti-catabolic, but not anabolic actions. *PLoS One*. 2014;9(10):e110020.
29. Jula AM, Karanko HM. Effects on left ventricular hypertrophy of long-term nonpharmacological treatment with sodium restriction in mild-to-moderate essential hypertension. *Circulation*. 1994;89(3):1023–31.
30. Hambrecht R, Gielen S, Linke A, Fiehn E, Yu J, Walther C, et al. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: A randomized trial. *JAMA*. 2000;283(23):3095–101.
31. Turner MJ, Spina RJ, Kohrt WM, Ehsani AA. Effect of endurance exercise training on left ventricular size and remodeling in older adults with hypertension. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2000;55(4):245–51.
32. Medeiros A, Rolim NPL, Oliveira RSF, Rosa KT, Mattos KC, Casarini DE, et al. Exercise training delays cardiac dysfunction and prevents calcium handling abnormalities in sympathetic hyperactivity-induced heart failure mice. *J Appl Physiol*. 2008;104(1):103–9.
33. Capersen CJ, Powell KE CG. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and

- distinctions for health-related research. *Public Heal Rep.* 1985;100:126–31.
34. Egan B, Zierath JR. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metab.* 2013;17(2):162–84.
35. Organization WH. Global Recommendations on Physical Activity for Health. 2010. 60 p.
36. Warburton DE, Nicol CW BS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ.* 2006;174(6):801–9.
37. Services USD of H and H. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. 1996.
38. Zanesco A, Antunes E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: pharmacological approaches. *Pharmacol Ther.* 2007;114(3):307–17.
39. Myers J. Exercise and Cardiovascular Health. *Circulation.* 2003;107(1):2e – 5.
40. Fernandes T, Soci UPR, Oliveira EM. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol.* 2011;44(9):836–47.
41. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, et al. Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2013;128(8):873–934.
42. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports.* 2015;25 Suppl 3:1–72.
43. Kiliszek M, Mackiewicz U, Maczewski M, Burzynska B. Molecular evidence that exercise training has beneficial effects on cardiac performance. *Ann Transl Med.* 2016;4(11):228.
44. Lin H, Sardana M, Zhang Y, Liu C, Trinquart L, Benjamin EJ, et al. Association of Habitual Physical Activity With Cardiovascular Disease Risk. *Circ Res.* 2020;127(10):1253–60.
45. Crimi E, Ignarro LJ, Cacciatore F, Napoli C. Mechanisms by which exercise training benefits patients with heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2009;6(4):292–300.
46. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation.* 2013;128(16):1810–52.
47. Brum PC, Forjaz CLM, Tinucci T NC. Acute and chronic adaptations of exercise on the cardiovascular system. *Rev Pauli Educ Fís.* 2004;18:21–31.
48. Bernardo BC, Ooi JYY, Weeks KL, Patterson NL, McMullen JR. Understanding Key Mechanisms of Exercise-Induced Cardiac Protection to Mitigate Disease: Current Knowledge and Emerging Concepts. *Physiol Rev.* 2018;98(1):419–75.
49. Hawley JA, Hargreaves M, Joyner MJ, Zierath JR. Integrative biology of exercise. *Cell.* 2014;159(4):738–49.
50. D’Souza A, Bucchi A, Johnsen AB, Logantha SJRJ, Monfredi O, Yanni J, et al. Exercise training reduces resting heart rate via downregulation of the funny channel HCN4. *Nat Commun.* 2014;5:1–12.
51. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *J Cell Physiol.* 2008;214(2):316–21.
52. Weeks KL, Gao X, Du X-J, Boey EJH, Matsumoto A, Bernardo BC, et al. Phosphoinositide 3-kinase p110 α is a master regulator of exercise-induced cardioprotection and PI3K gene therapy rescues cardiac dysfunction. *Circ Heart Fail.* 2012;5(4):523–34.
53. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(7):387–407.
54. Gomes MJ, Martinez PF, Campos DHS, Pagan LU, Bonomo C, Lima ARR, et al. Beneficial Effects of Physical Exercise on Functional Capacity and Skeletal Muscle Oxidative Stress in Rats with Aortic Stenosis-Induced Heart Failure. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:8695716.
55. Silva VL da. Participação do trânsito de cálcio e suas proteínas reguladoras na melhoria

- da função cardíaca de ratos com estenose aórtica supravalvar e disfunção ventricular submetidos a treinamento físico. Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp; 2019.
56. SOUZA SL. Tese de Doutorado. Participação do metabolismo energético lipídico miocárdico na atenuação da disfunção cardíaca pelo treinamento físico precoce em ratos com estenose aórtica. Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP; 2021.
57. Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*. 2000;405(6788):837–46.
58. Mokou M, Lygirou V, Vlahou A, Mischak H. Proteomics in cardiovascular disease: recent progress and clinical implication and implementation. *Expert Rev Proteomics*. 2017;14(2):117–36.
59. Liddy KA, White MY, Cordwell SJ. Functional decorations: post-translational modifications and heart disease delineated by targeted proteomics. *Genome Med*. 2013;5(2):20.
60. Chugh S, Suen C, Gramolini A. Proteomics and mass spectrometry: what have we learned about the heart? *Curr Cardiol Rev*. 2010;6(2):124–33.
61. Suzuki T, Nagai R. Molecular markers for cardiovascular disease: cardiovascular biomarkers to proteomic discovery. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008;5(6):295.
62. Van Eyk JE. Overview: the maturing of proteomics in cardiovascular research. *Circ Res*. 2011;108(4):490–8.
63. Sun Z, Hamilton KL, Reardon KF. Phosphoproteomics and molecular cardiology: techniques, applications and challenges. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;53(3):354–68.
64. Lam L, Lind J, Semsarian C. Application of proteomics in cardiovascular medicine. *Int J Cardiol*. 2006;108(1):12–9.
65. Corbett JM, Why HJ, Wheeler CH, Richardson PJ, Archard LC, Yacoub MH, et al. Cardiac protein abnormalities in dilated cardiomyopathy detected by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Electrophoresis*. 1998;19(11):2031–42.
66. Beck HC, Jensen LO, Gils C, Ilondo AMM, Frydland M, Hassager C, et al. Proteomic Discovery and Validation of the Confounding Effect of Heparin Administration on the Analysis of Candidate Cardiovascular Biomarkers. *Clin Chem*. 2018;64(10):1–11.
67. Xia Y, Hong H, Ye L, Wang Y, Chen H, Liu J. Label-free quantitative proteomic analysis of right ventricular remodeling in infant Tetralogy of Fallot patients. *J Proteomics*. 2013;84:78–91.
68. Gu HJ, Gao C Bin, Gong JL, Li XJ, Sun B, Li XN. Comparative proteomic analysis in left ventricular remodeling following myocardial infarction in rats. *Biomed Environ Sci*. 2012;25(1):117–23.
69. Mitra A, Basak T, Ahmad S, Datta K, Datta R, Sengupta S, et al. Comparative Proteome Profiling during Cardiac Hypertrophy and Myocardial Infarction Reveals Altered Glucose Oxidation by Differential Activation of Pyruvate Dehydrogenase E1 Component Subunit β . *J Mol Biol*. 2015;427(11):2104–20.
70. Manakov D, Ujcikova H, Pravenec M, Novotny J. Alterations in the cardiac proteome of the spontaneously hypertensive rat induced by transgenic expression of CD36. *J Proteomics*. 2016;145:177–86.
71. Meng C, Jin X, Xia L, Shen S-M, Wang X-L, Cai J, et al. Alterations of mitochondrial enzymes contribute to cardiac hypertrophy before hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *J Proteome Res*. 2009;8(5):2463–75.
72. Ma J, Banerjee P, Whelan SA, Liu T, Wei A-C, Ramirez-Correa G, et al. Comparative Proteomics Reveals Dysregulated Mitochondrial O-GlcNAcylation in Diabetic Hearts. *J Proteome Res*. 2016;15(7):2254–64.
73. Karthik D, Vijayakumar R, Pazhanichamy K, Ravikumar S. A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. *Acta Biochim Pol*. 2014;61(2):285–93.
74. G N, BP C, I. I. Red raspberry decreases heart biomarkers of cardiac remodeling associated

- with oxidative and inflammatory stress in obese diabetic db/db mice. *Food Funct.* 2016;7(12):4944–55.
75. Vileigas DF, Harman VM, Freire PP, Marciano CLC, Sant'Ana PG, de Souza SLB, et al. Landscape of heart proteome changes in a diet-induced obesity model. *Sci Rep.* 2019;9(1):18050.
76. Li L, Zhang H, Wang W, Hong Y, Wang J, Zhang S, et al. Comparative proteomics reveals abnormal binding of ATGL and dysferlin on lipid droplets from pressure overload-induced dysfunctional rat hearts. *Sci Rep.* 2016;6:19782.
77. Guan D, Zhao Y, Zhang Y, Tang D, Wu Q. Proteomics Analysis Revealed an Altered Left Ventricle Protein Profile in a Mouse Model of Transverse Aortic Constriction. *Protein Pept Lett.* 2016;23(2):125–31.
78. Hollander JM, Baseler WA, Dabkowski ER. Proteomic remodeling of mitochondria in heart failure. *Congest Heart Fail.* 2011;17(6):262–8.
79. Bugger H, Schwarzer M, Chen D, Schrepper A, Amorim PA, Schoepe M, et al. Proteomic remodelling of mitochondrial oxidative pathways in pressure overload-induced heart failure. *Cardiovasc Res.* 2010;85(2):376–84.
80. Kararigas G, Fliegner D, Forler S, Klein O, Schubert C, Gustafsson J-Å, et al. Comparative proteomic analysis reveals sex and estrogen receptor β effects in the pressure overloaded heart. *J Proteome Res.* 2014;13(12):5829–36.
81. Chang Y-W, Chang Y-T, Wang Q, Lin JJ-C, Chen Y-J, Chen C-C. Quantitative phosphoproteomic study of pressure-overloaded mouse heart reveals dynamin-related protein 1 as a modulator of cardiac hypertrophy. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12(11):3094–107.
82. Dai D-F, Hsieh EJ, Liu Y, Chen T, Beyer RP, Chin MT, et al. Mitochondrial proteome remodelling in pressure overload-induced heart failure: the role of mitochondrial oxidative stress. *Cardiovasc Res.* 2012;93(1):79–88.
83. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. *Proteomics.* 2009;9(1):106–15.
84. Ferreira R, Vitorino R, Padrão AI, Espadas G, Mancuso FM, Moreira-Gonçalves D, et al. Lifelong exercise training modulates cardiac mitochondrial phosphoproteome in rats. *J Proteome Res.* 2014;13(4):2045–55.
85. Boluyt MO, Brevick JL, Rogers DS, Randall MJ, Scalia AF, Li ZB. Changes in the rat heart proteome induced by exercise training: Increased abundance of heat shock protein hsp20. *Proteomics.* 2006;6(10):3154–69.
86. Kavazis AN, Alvarez S, Talbert E, Lee Y, Powers SK. Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009;297(1):144–52.
87. Dantas PS, Sakata MM, Perez JD, Watanabe RLH, Bizerra FC, Neves VJ das, et al. Unraveling the role of high-intensity resistance training on left ventricle proteome: Is there a shift towards maladaptation? *Life Sci.* 2016;152:156–64.
88. Petriz BA, Cunha VN, Vileth GRC, Mehta A, Rocha LAO, Silva ON, et al. Effects of acute exercise over heart proteome from monogenic obese (ob/ob) mice. *J Cell Physiol.* 2013;228(4):824–34.
89. Bansal A, Dai Q, Chiao YA, Hakala KW, Zhang JQ, Weintraub ST, et al. Proteomic analysis reveals late exercise effects on cardiac remodeling following myocardial infarction. *J Proteomics.* 2010;73(10):2041–9.
90. Petriz BA, Franco OL. Effects of Hypertension and Exercise on Cardiac Proteome Remodelling. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1–14.
91. Petriz BA, Almeida JA, Gomes CPC, Pereira RW, Murad AM, Franco OL. NanoUPLC/MS(E) proteomic analysis reveals modulation on left ventricle proteome from hypertensive rats after exercise training. *J Proteomics.* 2015;113:351–65.

92. Cox EJ, Marsh SA. Exercise and diabetes have opposite effects on the assembly and O-GlcNAc modification of the mSin3A/HDAC1/2 complex in the heart. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:101.
93. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren M V, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2007;6:38.
94. Mendes OC, Sugizaki MM, Campos DS, Damatto RL, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, et al. Exercise Tolerance in Rats with Aortic Stenosis and Ventricular Diastolic and/or Systolic Dysfunction. *Arq Bras Cardiol*. 2013;100(1):44–51.
95. Svedahl K, MacIntosh BR. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. *Can J Appl Physiol*. 2003;28(2):299–323.
96. Freckmann G, Schmid C, Pleus S, Baumstark A, Link M, Stolberg E, et al. System accuracy evaluation of systems for point-of-care testing of blood glucose: a comparison of a patient-use system with six professional-use systems. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52(7):1079–86.
97. Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation*. 1995;91(10):2642–54.
98. Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Cicogna AC, Janicki JS. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(4):H1534-9.
99. Bregagnollo, EA; Okoshi, K; Bregagnollo, IF; Padovani, CR; Okoshi, MP; Cicogna A. Effects of the prolonged inhibition of the angiotensin-converting enzyme on the morphological and functional characteristics of left ventricular hypertrophy in rats with persistent pressure overload. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(3):225–32.
100. Ono K, Masuyama T, Yamamoto K, Doi R, Sakata Y, Nishikawa N, et al. Echo doppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. *J Am Soc Echocardiogr*. 2002;15(2):109–17.
101. Tanaka N, Dalton N, Mao L, Rockman HA, Peterson KL, Gottshall KR, et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation*. 1996;94(5):1109–17.
102. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 1996;13:19–50.
103. Barallobre-Barreiro J, Chung Y-L, Mayr M. Proteomics and metabolomics for mechanistic insights and biomarker discovery in cardiovascular disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2013;66(8):657–61.
104. Yi Z, Bowen BP, Hwang H, Jenkinson CP, Coletta DK, Lefort N, et al. Global relationship between the proteome and transcriptome of human skeletal muscle. *J Proteome Res*. 2008;7(8):3230–41.
105. Brewis IA, Brennan P. Proteomics technologies for the global identification and quantification of proteins. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2010;80:1–44.
106. Latosinska A, Vougas K, Makridakis M, Klein J, Mullen W, Abbas M, et al. Comparative Analysis of Label-Free and 8-Plex iTRAQ Approach for Quantitative Tissue Proteomic Analysis. *PLoS One*. 2015;10(9):1–25.
107. Huang Q, Xi G, Alamdar A, Zhang J, Shen H. Comparative proteomic analysis reveals heart toxicity induced by chronic arsenic exposure in rats. *Environ Pollut*. 2017;229:210–8.
108. Yates JR. The revolution and evolution of shotgun proteomics for large-scale proteome analysis. *J Am Chem Soc*. 2013;135(5):1629–40.
109. Ouistorff B, Pedersen E. A new device for the freeze-clamping of tissue samples. *Anal Biochem*. 1976;73(1):236–9.

110. Walker JM. The bicinchoninic acid (BCA) assay for protein quantitation. *Methods Mol Biol.* 1994;32:5–8.
111. Xie C, Mao X, Huang J, Ding Y, Wu J, Dong S, et al. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(suppl_2):W316–22.
112. Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D607–13.
113. Gross EM, Maddipati SS, Snyder SM. A review of electrogenerated chemiluminescent biosensors for assays in biological matrices. *Bioanalysis.* 2016;8(19):2071–89.
114. Johnson RA WD. Applied multivariate statistical analysis. 6 edition. Prentice-Hall, editor. New Jersey; 2007. 773 p.
115. Goodman LA. On Simultaneous Confidence Intervals for Multinomial Proportions. *Technometrics;* 1965. 247–254 p.
116. Supek F, Bošnjak M, Škunca N, Šmuc T. REVIGO summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. *PLoS One.* 2011;6(7):e21800.
117. Pelliccia A, Sharma S, Gati S, Bäck M, Börjesson M, Caselli S, et al. 2020 ESC Guidelines on sports cardiology and exercise in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2021;42(1):17–96.
118. Suppan M, Barcelos G, Luise S, Diaper J, Frei A, Ellenberger C, et al. Improved Exercise Tolerance, Oxygen Delivery, and Oxygen Utilization After Transcatheter Aortic Valve Implantation for Severe Aortic Stenosis. *CJC open.* 2020;2(6):490–6.
119. Pazzianotto-Forti EM, Moreno MA, Plater E, Baruki SBS, Rasera-Junior I, Reid WD. Impact of Physical Training Programs on Physical Fitness in People With Class II and III Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Phys Ther.* 2020;100(6):963–78.
120. Sjölin I, Bäck M, Nilsson L, Schiopu A, Leosdottir M. Association between attending exercise-based cardiac rehabilitation and cardiovascular risk factors at one-year post myocardial infarction. *PLoS One.* 2020;15(5):e0232772.
121. Saco-Ledo G, Valenzuela PL, Ruiz-Hurtado G, Ruilope LM, Lucia A. Exercise Reduces Ambulatory Blood Pressure in Patients With Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(24):e018487.
122. Brooks GA. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell Metab.* 2018;27(4):757–85.
123. Kadkhodayan A, Coggan AR, Peterson LR. A “PET” area of interest: myocardial metabolism in human systolic heart failure. *Heart Fail Rev.* 2013;18(5):567–74.
124. Kolwicz SC, Purohit S, Tian R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. *Circ Res.* 2013;113(5):603–16.
125. Bertero E, Maack C. Metabolic remodelling in heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(8):457–70.
126. Zhou B, Tian R. Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure. *J Clin Invest.* 2018;128(9):3716–26.
127. Schugar RC, Moll AR, André d’Avignon D, Weinheimer CJ, Kovacs A, Crawford PA. Cardiomyocyte-specific deficiency of ketone body metabolism promotes accelerated pathological remodeling. *Mol Metab.* 2014;3(7):754–69.
128. Aubert G, Martin OJ, Horton JL, Lai L, Vega RB, Leone TC, et al. The Failing Heart Relies on Ketone Bodies as a Fuel. *Circulation.* 2016;133(8):698–705.
129. Byrne NJ, Soni S, Takahara S, Ferdaoussi M, Al Batran R, Darwesh AM, et al. Chronically Elevating Circulating Ketones Can Reduce Cardiac Inflammation and Blunt the Development of Heart Failure. *Circ Heart Fail.* 2020;13(6):e006573.
130. van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, van der Meer P. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail.* 2019;21(4):425–35.

131. Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, Saccaro LF, Franzini M, Masi S, et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol.* 2020;27(5):494–510.
132. Fisher AB. Peroxiredoxin 6 in the repair of peroxidized cell membranes and cell signaling. *Arch Biochem Biophys.* 2017;617:68–83.
133. Tsoporis JN, Drosatos I-A, Gupta S, Amatullah H, Izhar S, Dos Santos CC, et al. Cytoprotective Mechanisms of DJ-1: Implications in Cardiac Pathophysiology. *Molecules.* 2021;26(13).
134. Billia F, Hauck L, Grothe D, Konecny F, Rao V, Kim RH, et al. Parkinson-susceptibility gene DJ-1/PARK7 protects the murine heart from oxidative damage in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(15):6085–90.
135. Dongworth RK, Mukherjee UA, Hall AR, Astin R, Ong S-B, Yao Z, et al. DJ-1 protects against cell death following acute cardiac ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1082.
136. Fan J, Ren H, Jia N, Fei E, Zhou T, Jiang P, et al. DJ-1 decreases Bax expression through repressing p53 transcriptional activity. *J Biol Chem.* 2008;283(7):4022–30.
137. van der Brug MP, Blackinton J, Chandran J, Hao L-Y, Lal A, Mazan-Mamczarz K, et al. RNA binding activity of the recessive parkinsonism protein DJ-1 supports involvement in multiple cellular pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(29):10244–9.
138. Bonifati V, Rizzu P, Squitieri F, Krieger E, Vanacore N, van Swieten JC, et al. DJ-1 (PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neurol Sci.* 2003;24(3):159–60.
139. Lu H-S, Chen H-P, Wang S, Yu H-H, Huang X-S, Huang Q-R, et al. Hypoxic preconditioning up-regulates DJ-1 protein expression in rat heart-derived H9c2 cells through the activation of extracellular-regulated kinase 1/2 pathway. *Mol Cell Biochem.* 2012;370(1–2):231–40.
140. Yan Y-F, Chen H-P, Huang X-S, Qiu L-Y, Liao Z-P, Huang Q-R. DJ-1 Mediates the Delayed Cardioprotection of Hypoxic Preconditioning Through Activation of Nrf2 and Subsequent Upregulation of Antioxidative Enzymes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015;66(2):148–58.
141. Xin L-H, Liu W-J, Song T, Zhang L. Overexpression of DJ-1 expression protects cardiomyocyte apoptosis induced by ischemia reperfusion. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(23):11988.
142. Shimizu Y, Nicholson CK, Polavarapu R, Pantner Y, Husain A, Naqvi N, et al. Role of DJ-1 in Modulating Glycative Stress in Heart Failure. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(4):e014691.
143. Lee J, Song J, Kwon K, Jang S, Kim C, Baek K, et al. Human DJ-1 and its homologs are novel glyoxalases. *Hum Mol Genet.* 2012;21(14):3215–25.
144. Sousa Silva M, Gomes RA, Ferreira AEN, Ponces Freire A, Cordeiro C. The glyoxalase pathway: the first hundred years... and beyond. *Biochem J.* 2013;453(1):1–15.
145. Aleshin A, Ananthakrishnan R, Li Q, Rosario R, Lu Y, Qu W, et al. RAGE modulates myocardial injury consequent to LAD infarction via impact on JNK and STAT signaling in a murine model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(4):H1823–32.
146. Liu Y, Qu Y, Wang R, Ma Y, Xia C, Gao C, et al. The alternative crosstalk between RAGE and nitrative thioredoxin inactivation during diabetic myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;303(7):E841–52.
147. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation.* 2006;114(6):597–605.
148. Koyama Y, Takeishi Y, Arimoto T, Niizeki T, Shishido T, Takahashi H, et al. High serum level of pentosidine, an advanced glycation end product (AGE), is a risk factor of patients with heart failure. *J Card Fail.* 2007;13(3):199–206.
149. Wang LJ, Lu L, Zhang FR, Chen QJ, De Caterina R, Shen WF. Increased serum high-mobility group box-1 and cleaved receptor for advanced glycation endproducts levels and decreased endogenous secretory receptor for advanced glycation endproducts levels in

- diabetic and non-diabetic patients with heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2011;13(4):440–9.
150. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;301(6):H2181-90.
151. Galat A. Peptidylprolyl cis/trans isomerases (immunophilins): biological diversity--targets--functions. *Curr Top Med Chem.* 2003;3(12):1315–47.
152. Perrucci GL, Gowran A, Zanobini M, Capogrossi MC, Pompilio G, Nigro P. Peptidyl-prolyl isomerases: a full cast of critical actors in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res.* 2015;106(3):353–64.
153. Galat A. Peptidylproline cis-trans-isomerases: immunophilins. *Eur J Biochem.* 1993;216(3):689–707.
154. Nigro P, Pompilio G, Capogrossi MC. Cyclophilin A: a key player for human disease. *Cell Death Dis.* 2013;4:e888.
155. Satoh K, Nigro P, Zeidan A, Soe NN, Jaffré F, Oikawa M, et al. Cyclophilin A promotes cardiac hypertrophy in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(5):1116–23.
156. Satoh K, Nigro P, Matoba T, O'Dell MR, Cui Z, Shi X, et al. Cyclophilin A enhances vascular oxidative stress and the development of angiotensin II-induced aortic aneurysms. *Nat Med.* 2009;15(6):649–56.
157. Xu J, Fang J, Cheng Z, Fan L, Hu W, Zhou F, et al. Overexpression of the Kininogen-1 inhibits proliferation and induces apoptosis of glioma cells. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):180.
158. Cheng X, Liu D, Song H, Tian X, Yan C, Han Y. Overexpression of Kininogen-1 aggravates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in DOX-induced cardiotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021;550:142–50.
159. Alvarado G, Tóth A, Csősz É, Kalló G, Dankó K, Csernátóy Z, et al. Heme-Induced Oxidation of Cysteine Groups of Myofilament Proteins Leads to Contractile Dysfunction of Permeabilized Human Skeletal Muscle Fibres. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21).
160. Belcher JD, Chen C, Nguyen J, Milbauer L, Abdulla F, Alayash AI, et al. Heme triggers TLR4 signaling leading to endothelial cell activation and vaso-occlusion in murine sickle cell disease. *Blood.* 2014;123(3):377–90.
161. Sequeira V, Nijenkamp LLAM, Regan JA, van der Velden J. The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alterations in heart failure. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1838(2):700–22.
162. Pernier J, Shekhar S, Jegou A, Guichard B, Carlier M-F. Profilin Interaction with Actin Filament Barbed End Controls Dynamic Instability, Capping, Branching, and Motility. *Dev Cell.* 2016;36(2):201–14.
163. Li Z, Zhong Q, Yang T, Xie X, Chen M. The role of profilin-1 in endothelial cell injury induced by advanced glycation end products (AGEs). *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:141.
164. Jin H-Y, Song B, Oudit GY, Davidge ST, Yu H-M, Jiang Y-Y, et al. ACE2 deficiency enhances angiotensin II-mediated aortic profilin-1 expression, inflammation and peroxynitrite production. *PLoS One.* 2012;7(6):e38502.
165. Cheng J-F, Ni G-H, Chen M-F, Li Y-J, Wang Y-J, Wang C-L, et al. Involvement of profilin-1 in angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Vascul Pharmacol.* 55(1–3):34–41.
166. Sheikh F, Raskin A, Chu P-H, Lange S, Domenighetti AA, Zheng M, et al. An FHL1-containing complex within the cardiomyocyte sarcomere mediates hypertrophic biomechanical stress responses in mice. *J Clin Invest.* 2008;118(12):3870–80.
167. Chu PH, Ruiz-Lozano P, Zhou Q, Cai C, Chen J. Expression patterns of FHL/SLIM family members suggest important functional roles in skeletal muscle and cardiovascular system. *Mech Dev.* 2000;95(1–2):259–65.
168. Hein S, Kostin S, Heling A, Maeno Y, Schaper J. The role of the cytoskeleton in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2000;45(2):273–8.

169. Zhao S, Gao H, Ji X, Wang Y, Liu X, You B, et al. Effect of ouabain on myocardial ultrastructure and cytoskeleton during the development of ventricular hypertrophy. *Heart Vessels*. 2013;28(1):101–13.
170. González A, López B, Ravassa S, Querejeta R, Larman M, Díez J, et al. Stimulation of cardiac apoptosis in essential hypertension: potential role of angiotensin II. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2002;39(1):75–80.
171. Garg S, Narula J, Chandrashekar Y. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;38(1):73–9.
172. Reutelingsperger CP, van Heerde WL. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. *Cell Mol Life Sci*. 1997;53(6):527–32.
173. Fadok VA, Bratton DL, Frasch SC, Warner ML, Henson PM. The role of phosphatidylserine in recognition of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Differ*. 1998;5(7):551–62.
174. Maloberti A, Meani P, Vallerio P, Varrenti M, Casadei F, Musca F, et al. Annexin A5 in treated hypertensive patients and its association with target organ damage. *J Hypertens*. 2017;35(1):154–61.
175. de Jong RCM, Pluijmert NJ, de Vries MR, Pettersson K, Atsma DE, Jukema JW, et al. Annexin A5 reduces infarct size and improves cardiac function after myocardial ischemia-reperfusion injury by suppression of the cardiac inflammatory response. *Sci Rep*. 2018;8(1):6753.
176. Camors E, Monceau V, Charlemagne D. Annexins and Ca²⁺ handling in the heart. *Cardiovasc Res*. 2005;65(4):793–802.
177. Benevolensky D, Belikova Y, Mohammadzadeh R, Trouvé P, Marotte F, Russo-Marie F, et al. Expression and localization of the annexins II, V, and VI in myocardium from patients with end-stage heart failure. *Lab Invest*. 2000;80(2):123–33.
178. Ravassa S, González A, López B, Beaumont J, Querejeta R, Larman M, et al. Upregulation of myocardial Annexin A5 in hypertensive heart disease: association with systolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2007;28(22):2785–91.
179. Anderson EJ, Efrid JT, Davies SW, O'Neal WT, Darden TM, Thayne KA, et al. Monoamine oxidase is a major determinant of redox balance in human atrial myocardium and is associated with postoperative atrial fibrillation. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000713.
180. Kaludercic N, Mialet-Perez J, Paolocci N, Parini A, Di Lisa F. Monoamine oxidases as sources of oxidants in the heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;73:34–42.
181. Villeneuve C, Guilbeau-Frugier C, Sicard P, Lairez O, Ordener C, Duparc T, et al. p53-PGC-1 α pathway mediates oxidative mitochondrial damage and cardiomyocyte necrosis induced by monoamine oxidase-A upregulation: role in chronic left ventricular dysfunction in mice. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(1):5–18.
182. Manni ME, Zazzeri M, Musilli C, Bigagli E, Lodovici M, Raimondi L. Exposure of cardiomyocytes to angiotensin II induces over-activation of monoamine oxidase type A: implications in heart failure. *Eur J Pharmacol*. 2013;718(1–3):271–6.
183. Santin Y, Sicard P, Vigneron F, Guilbeau-Frugier C, Dutaur M, Lairez O, et al. Oxidative Stress by Monoamine Oxidase-A Impairs Transcription Factor EB Activation and Autophagosome Clearance, Leading to Cardiomyocyte Necrosis and Heart Failure. *Antioxid Redox Signal*. 2016;25(1):10–27.
184. Morimoto RI. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. *Genes Dev*. 2008;22(11):1427–38.
185. Ranek MJ, Stachowski MJ, Kirk JA, Willis MS. The role of heat shock proteins and co-chaperones in heart failure. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018;373(1738).
186. Quindry JC, Miller L, McGinnis G, Kliszczewicz B, Irwin JM, Landram M, et al. Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise-induced cardioprotection against apoptosis. *J Appl Physiol*. 2012;113(3):498–506.
187. Lee YI, Cho JY, Kim MH, Kim KB, Lee DJ, Lee KS. Effects of exercise training on pathological

- cardiac hypertrophy related gene expression and apoptosis. *Eur J Appl Physiol.* 2006;97(2):216–24.
188. Cheng S-M, Ho T-J, Yang A-L, Chen I-J, Kao C-L, Wu F-N, et al. Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Cardiol.* 2013;167(2):478–85.
189. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and cardiovascular disease. *Annu Rev Physiol.* 2014;76:39–56.
190. Fukuda R, Zhang H, Kim J, Shimoda L, Dang C V, Semenza GL. HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell.* 2007;129(1):111–22.
191. Tran DH, Wang Z V. Glucose Metabolism in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(12):e012673.
192. Cardoso AM, Martins CC, Fiorin F da S, Schmatz R, Abdalla FH, Gutierrez J, et al. Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct.* 2013;31(2):136–51.
193. Bozi LHM, Jannig PR, Rolim N, Voltarelli VA, Dourado PMM, Wisløff U, et al. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. *J Cell Mol Med.* 2016;20(11):2208–12.
194. Liao Z, Li D, Chen Y, Li Y, Huang R, Zhu K, et al. Early moderate exercise benefits myocardial infarction healing via improvement of inflammation and ventricular remodelling in rats. *J Cell Mol Med.* 2019;23(12):8328–42.
195. Yanatori I, Richardson DR, Toyokuni S, Kishi F. How iron is handled in the course of heme catabolism: Integration of heme oxygenase with intracellular iron transport mechanisms mediated by poly (rC)-binding protein-2. *Arch Biochem Biophys.* 2019;672:108071.
196. Khechaduri A, Bayeva M, Chang H-C, Ardehali H. Heme levels are increased in human failing hearts. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(18):1884–93.
197. Bhoite-Solomon V, Kessler-Icekson G, Shaklai N. Myocyte injury by hemin. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 1993;29A(8):636–42.
198. Liao P-H, Hsieh DJ-Y, Kuo C-H, Day C-H, Shen C-Y, Lai C-H, et al. Moderate exercise training attenuates aging-induced cardiac inflammation, hypertrophy and fibrosis injuries of rat hearts. *Oncotarget.* 2015;6(34):35383–94.
199. Miyachi M, Yazawa H, Furukawa M, Tsuboi K, Ohtake M, Nishizawa T, et al. Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2009;53(4):701–7.
200. Katsumoto T, Mitsushima A, Kurimura T. The role of the vimentin intermediate filaments in rat 3Y1 cells elucidated by immunoelectron microscopy and computer-graphic reconstruction. *Biol cell.* 1990;68(2):139–46.