

Adriana Sarmiento de Oliveira Cruz

**Efeito do treinamento físico na modulação autonômica
cardiovascular e no tecido muscular esquelético em pacientes
com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Barbara Maria Ianni

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cruz, Adriana Sarmento de Oliveira

Efeito do treinamento físico na modulação autonômica cardiovascular e no tecido muscular esquelético em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada / Adriana Sarmento de Oliveira Cruz -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientadora: Barbara Maria Ianni.

Descritores: 1.Cardiomiopatia chagásica 2.Sistema nervoso simpático
3.Barorreflexo 4.Músculo esquelético 5.Expressão gênica 6.Exercício

USP/FM/DBD-229/17

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Rei dos Reis e Senhor dos Senhores, eu te louvo porque tu me deste muito além do que um dia eu pedi ou sonhei. Te agradeço pela oportunidade de concluir esta tese na melhor Universidade da América Latina e não apenas por isto, mas também pelo teu cuidado em toda a trajetória até aqui, pelo teu infinito amor, pelas pessoas maravilhosas que colocastes em meu caminho, por manteres a alegria, a fé e os sonhos sempre vivos em meu coração mesmo nos momentos mais difíceis, e principalmente por teres me dado a certeza da vida eterna.

Aos meus pais, Manoel Luis de Oliveira e Maria das Graças Sarmento de Oliveira, as pessoas mais carinhosas e puras que conheci em minha vida. Vocês são minhas maiores referências na vida pessoal e profissional. Sacrificaram seus sonhos em favor dos meus, me ofereceram a melhor educação, me ensinaram a lutar pelos meus sonhos e nunca desistir diante dos obstáculos, dando a segurança de ter uma estrutura familiar abençoada independentemente de onde estiver e para o que eu precisar. A minha avó Iolanda Lima Sarmento, minha segunda mãe, que me ensinou a ter prazer em ler e escrever, e por sempre estimular minha criatividade. Me introduziu a palavra de Deus e continuamente me alegra com sua jovialidade, disposição e histórias incríveis de vida.

Ao meu amor, José de Paulo Cruz Filho, companheiro de uma vida nestes treze anos juntos. Presente em cada momento de provação, em oração, me consolando, me apoiando, reafirmando a cada dia seu amor. Presente também em cada conquista, cada comemoração, se alegrando comigo nas pequenas e grandes vitórias, e dividindo não apenas corpo, mas também alma e coração. Esta tese é tão minha quanto sua. Te amo para sempre, meu esposo, obrigada por deixar meus dias ainda mais doces e felizes!

A meu time de irmãs: Fabiana, Luciana, Socorro, Irene, Rosângela, sendo além de irmãs, grandes companheiras; e em especial a Polyana e Suênia (in memorian), que estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha vida. As experiências compartilhadas, as dificuldades enfrentadas juntas, as gargalhadas do dia a dia, os almoços de domingo. Também dedico aos meus sobrinhos queridos Lucas, Laís, Victor e Brenda. A minha alegria e responsabilidade em ser exemplo e incentivo para vocês me inspiram cada dia mais! Agradeço também aos demais membros da minha grande família, vocês são a minha base! Obrigada por tudo!

A Igreja Cristã Maranata, minha segunda família, que me acolheu desde criança e continua me acolhendo em toda a minha trajetória acadêmica, em cada cidade que morei para estudar (São Paulo, Toronto, Recife, João Pessoa e Campina Grande, minha base). Vocês abriram as portas das suas casas e dos seus corações. Obrigada por me ensinarem a cada dia a “amar uns aos outros”, pelas constantes orações e por fazerem me sentir em família independentemente do local que esteja.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Barbara Maria Ianni, pela honra de ter sido sua orientanda. Embora seja referência em Chagas no Brasil, “tendo mais anos estudando Chagas do que eu tenho de vida”, você é a minha maior referência também em humildade e humanidade na vida acadêmica. Seu desprendimento de ego e vaidade a tornam única! Obrigada pelo seu comprometimento tanto com a qualidade desta tese quanto dos artigos, pela releitura juntas de todos os textos e a total abertura para discussões... tudo foi um grande aprendizado! Gostaria de agradecer também por ter me incentivado alegre e confiantemente nas sete vezes nas quais concorremos à bolsa de doutorado sanduiche. Se hoje concluo o doutorado com experiência fora do país e professora universitária, seu incentivo e apoio foram fundamentais. Você é um presente de Deus!

Ao Prof. Dr. Charles Mady, por carinhosamente ter me acolhido no grupo da Miocardiopatias-Doenças da Aorta desde o primeiro momento. Seu profissionalismo, ousadia, alegria e capacidade agregadora são admiráveis e serão inspirações ao longo da minha vida. Obrigada por me receber literalmente de braços abertos a cada reunião e encontro, seu acolhimento foi indispensável para minha integração ao grupo!

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão, que foi meu primeiro contato na Unidade de Reabilitação, e abriu as portas para eu viesse para o grupo e desenvolvesse este projeto. Obrigada pela oportunidade e confiança de desenvolver não apenas este, mas tantos outros projetos de pesquisa em seu laboratório, e pelos anos de aprendizado, discussão e análise crítica de dados, e conversas sobre a ciência no Brasil e no mundo!

A Profa. Dra. Ivani Credidio Trombetta, com quem propus co-orientação conjunta de alunos do aprimoramento, para ter o privilégio de uma maior convivência no dia a dia, e aprender um pouco com esta fonte de conhecimento, não apenas científicos, mas também de vida. Sua forma de conduzir as orientações, sua paciência e a dinâmica de seu grupo, são alguns dos ensinamentos que levarei para a vida! Iva, obrigada pela sua amizade e por ter me recebido em seu grupo!

A Profa. Dra. Maria Janieire Alves, obrigada por compartilhar não apenas nesta tese, mas em outros projetos seus, o admirável fascínio que você tem pela ciência, o seu carinho com os pacientes, e a preocupação em discutir e entender cada dado! Obrigada por ser a médica responsável pelo meu protocolo, estando presente (sempre com alegria e risadas contagiantes) em todos os exames. E pela honra de ter conhecido os queridos Srs Paizinha e Jota, obrigada pela confiança e carinho!

A Profa. Dra. Ana Maria Braga, que me acolheu no laboratório muito antes do meu ingresso no doutorado. Muito obrigada por todo o seu cuidado quando ficava doente, pelas longas conversas sempre acompanhadas de muitas gargalhadas, pela torcida e incentivo de sempre, principalmente quando me casei... foi um privilégio compartilhar toda a felicidade com você! E pelos momentos super animados em sua casa, juntas com o seu esposo Carlos. Uma grande honra ser sua amiga!

A Profa. Dra. Maria Urbana Rondon, um exemplo de pesquisadora, com toda sua vasta experiência e conhecimento nesta área, contribuiu grandemente para esta tese. Obrigada pela revisão da contagem dos disparos da ANSM, discussão dos dados e pelo

carinho. Foi fascinante e inspirador ter acompanhado seu raciocínio e trabalho tão minucioso e sério durante a revisão do meu artigo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Vieira, pela realização dos exames ecocardiográficos e discussão dos dados, sempre muito disponível e com bom humor.

A banca que me avaliou na qualificação da tese: Prof. Dr. Fábio Fernandes, Profa. Dra. Ivani Trombetta e Profa. Dra. Lisete Michelini. Foi uma honra ter sido avaliada por mestres que são inspirações para minha vida acadêmica. Muito obrigada por todas as contribuições que vocês fizeram.

As pesquisadoras do laboratório que colaboraram com a execução da minha tese. A Profa. Dra. Denise Lobo, obrigada pelo auxílio nos protocolos de infusão de todos os pacientes. A Profa. Dra. Ligia Antunes-Correa, pelo ensino das principais avaliações do laboratório, auxílio nos exames de microneurografia, conselhos e contribuições para minha vida acadêmica e pessoal, sensatez e pela amizade. A Profa. Dra. Raphaela Groehs, por ensinar a metodologia de análise espectral da ANSM, pela companhia de anos no laboratório em vários projetos e pela amizade, você me apoiou e esteve ao meu lado em momentos imprescindíveis, sou muito grata por isso.

A Profa. Dra. Patrícia Brum, pelo exemplo de equilíbrio entre vida profissional e pessoal, e pela paixão contagiante pela ciência. Muito obrigada pelo carinho, pela oportunidade de frequentar as reuniões do seu grupo, por abrir as portas do seu laboratório para as análises histológicas desta tese, por ter cedido gentilmente os primers, e pela reunião que fizemos com a Aline para discussão destes dados histológicos e seleção dos genes a serem estudados. Aprendi muito com toda a expertise de vocês. A Profa. Dra. Aline Bacurau, muito obrigada pela realização das análises histológicas até altas horas da noite e pela gentileza das caronas quando terminávamos estas análises, mesmo você grávida! No carro, conversávamos bastante sobre a vida, ouvia seus conselhos e a tudo isso serei eternamente grata. Agradeço também a excelente e indispensável contribuição intelectual e a amizade.

Ao grupo de Miocardiopatias-Doenças da Aorta: Dr. Edmundo Arteaga, Dr. Fabio Fernandes, Dr. Felix Ramires, Dra. Fernanda Pessoa, Ms. Keila Fonseca, Lucia Oliveira, Dr Luciano Nastari, Orlando Ribeiro, Dra. Paula Buck e Roseli Chaves, obrigada por todo carinho, recepção calorosa, pelas reuniões para discussão dos dados da tese e comemorações. É uma honra fazer parte deste grupo. Em especial, agradeço ao Dr. Felix Ramires, a Dra. Fernanda Pessoa e a Ms. Keila Fonseca por cederem os materiais necessários para análise dos dados de expressão gênica, viabilizando a realização das mesmas, pela execução destas análises, priorizando as mesmas mesmo diante de tantos outros compromissos, e pela contribuição intelectual durante a discussão dos resultados.

Obrigada a todos os alunos do grupo da Patrícia Brum, especialmente a Dra. Telma, Janaína, Dra. Úrsula, Dra. Vanessa, Dr. Paulo Janning, Marcele Coelho, Ms. Nathalie, Dr. Rodrigo, Dra. Fafá, e o Prof. Dr. Paulo Ramires. Muito obrigada pelos anos de convivência, pelo apoio em tudo o que precisei no laboratório, pelas discussões de dados e papers, pelas comemorações e amizade. Telminha, Jana e Paulo, em especial, muito obrigado pela amizade e todo apoio em relação a este estudo.

A Profa. Dra. Edilamar Meneses, pelo carinho, pela oportunidade de permitir participar das reuniões do seu grupo e por tudo o que aprendi convivendo com vocês. Obrigada a todo o seu grupo, que embora não tenham contribuição direta nesta tese,

mas sou muito grata por tudo o que aprendi frequentando as reuniões, na convivência no laboratório, discussão de dados e papers, informações indispensáveis para a minha formação. Obrigada, em especial, aos amigos Fernanda Roque e Tiago Fernandes, pela amizade e por tudo o que aprendi e vivenciei com vocês.

A Profa. Dra. Lisete Michelini, pela oportunidade de discutir os dados desta tese e por todo conhecimento transmitido nas duas disciplinas que cursei no ICB e foram ministradas pela senhora. Autora do material didático que estudo há anos. Honra!

A estaticista Julia Fukushima, pelos conhecimentos transmitidos, sanado dúvidas sobre a aplicação de testes, e pelas conversas e momentos de descontração.

A Profa. Dra. Patrícia Perlingeiro, minha amiga, obrigada por estar presente nos bons e maus momentos, pelos passeios divertidos por São Paulo com sua mãe, as conversas sobre a vida. Por ter me ensinado a coleta, análise e minha base sobre o barorreflexo, de forma despretensiosa e desinteressada. Amizade eterna! Agradeço a D. Lúcia, obrigada por me fazer sentir em casa em sua casa, pelo carinho, amizade e apoio nos momentos mais difíceis, e por comemorar os momentos especiais junto conosco!

Ao doutorando Renan Guerra, irmão que São Paulo me deu. Às vezes irmão mais velho, às vezes mais novo. Não tenho palavras para agradecer o carinho com que você e sua família acolheram a mim e a meu esposo. Obrigada por ter sido literalmente meus braços no laboratório, quando o meu estava doente, pelo cuidado, gentileza e amizade verdadeira. Sou eternamente grata aos queridos amigos, Rosângela Guerra e Hugo Guerra, por me fazerem sentir em família, pelo carinho, confiança e respeito.

A Profa. Ms. Camila Paixão Jordão, obrigada pelo seu carinho, amizade, e seus sábios conselhos... levarei por toda a minha vida! Foram decisivos e vieram em momentos que mais precisei. As aulas de inglês juntas com a Profa. Ms. Rosário, também foram momentos únicos de aprendizado, aperfeiçoamento e nossa ida e volta juntas eram sempre momentos de alegria. Obrigada ainda por ter me ensinado os procedimentos dos testes ergoespirométricos e me acompanhado nos primeiros exames.

A Profa. Dra. Clévia Passos, por sua amizade sincera, seu abraço apertado, as longas horas de conversas, o apoio nos momentos mais difíceis com seu bom humor, ombro amigo e sua fé. Desde o momento que nos conhecemos, sabíamos que a nossa amizade seria por toda a vida! Poucas pessoas tem seu “desprendimento em ajudar sem esperar nada em troca”. Espero que a minha amizade seja sempre suficiente e que eu possa estar ao seu lado, ajudando sempre que você precisar.

Aos amigos: Dra. Ana Sayegh, Ms. Akothirene Cristhina, Ms. Felipe Cepeda, Dr. Igor Santos, Dra. Maira Rodrigues, Dra. Patrícia Trevizan e Ms. Sara Rodrigues. Estar com vocês é diversão garantida! Obrigada pela amizade, incentivo principalmente para a experiência do doutorado sanduíche, conselhos, apoio, passeios de bike, almoços, jantares, cafés... os momentos que passamos juntos foram sempre maravilhosos e indescritíveis, e os guardarei para sempre em meu coração!

Aos amigos que me receberam em 2010, em minha visita ao Incor, ainda durante o mestrado, e me deram todo o incentivo para me mudar para São Paulo em busca deste sonho: Prof. Dr. Daniel Martinez, Dr. Edgar Dias, doutorando Francis Ribeiro, Profa. Dra. Luciene Azevedo, Dr. Marcelo Santos, Dra. Patrícia Trevizan, Dra. Thais Nobre e Dra. Thais Pavan. Em especial a você, Paty, foram seis meses em contato por email até a minha mudança efetiva, e sua atenção, carinho e dicas foram fundamentais. Obrigada, amiga!

E aos amigos do laboratório no início da minha trajetória no InCor, em meu primeiro ano em São Paulo. As queridas Luana Nobre e Raquel Vasconcelos que me marcaram pela amizade, apoio e momentos maravilhosos e únicos que passamos juntas com as amigas das disciplinas do ICB Kely Santiago e Ediane Arimatea. Ao amigo Carlos Alcino, também companheiro destas disciplinas e das longas conversas sobre a vida. Agradeço a você e a Ju, por todo carinho e incentivo de sempre. A Dra. Thais Nobre, pela recepção, amizade e por gerenciar momentos de confraternização com o grupo. A Profa. Dra. Camila Teixeira, sempre com alegria e energia contagiante, e disposta a ajudar e trocar conhecimentos. Ao amigo Prof. Dr. Cleber Rene, que também tive o privilégio de conhecer no laboratório nesta época e compartilhar experiências de vida e de ciência. Nossa amizade e apoio mútuo perpetuarão para sempre! Ao Prof. Dr. João Batista Serro Azul e a Profa. Dra. Ruth Melo, obrigada pela oportunidade de participar do projeto dos idosos hipertensos, foi uma grande oportunidade de aprendizado e maturidade científica, além do privilégio de conviver com os pacientes idosos sempre tão carinhosos. Ruth, obrigada por todo conhecimento intelectual compartilhado e pelas conversas sobre a vida, saudades.

Aos amigos mais recentes e não menos importantes, Ana Paula, doutorando Leandro Silva, Mayara Santos e Ms. Thulio Andrade. Obrigada pela amizade, confiança e por compartilharem sonhos e projetos de vida! Ao amigo Ms. Jeferson Cabral, obrigada pela amizade, confiança e oportunidade! Cresceremos muito juntos!

Aos demais amigos da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor, que ainda não citei: Dra. Aída Turquetto, Dr. Alan Sales, Bruna Piovezani, Camila Assumpção, Carlos Henrique, Guilherme Fonseca, Gustavo Souza, Kelly Correia, Ms. Larissa Ferreira, Ms. Leslie Virmondes, Rafael Armani, Dra. Rosyvaldo Silva, Ms. Tassia Rodrigues, Thiago Goya, Thiago Oliveira, Vinicius Ribeiro e Ms. Wanda Rafela. Muito obrigada pela amizade, trocas de experiências, por tornarem a rotina mais alegre e divertida, pelos cafês, pelas comemorações dos “Aniversariantes do mês”, dos “Chás de bebês”, “Finais de ano”, e das saudosas aulas do grupo de estudos de Fisiologia... as discussões eram realmente fantásticas.

Aos queridos professores de Educação Física da Unidade: Ana Cláudia, Ms. Camila Paixão, Chris Menegassi, Daniela Agostinho, Dr. Eduardo Rondon, Luciana Santos, Mayara Santos, Dr. Newton Nunes e Renato Pelaquim, pelo cuidado exemplar com os pacientes, discussões de prescrição de treinamento físico e pela amizade. Em especial ao Prof. Dr. Eduardo Rondon, pela revisão minuciosa dos testes ergoespirométricos desta tese. As queridas nutricionistas Glauce Carvalho e Alessandra Imaizumi, pela amizade, gentileza, cuidado e carinho comigo e com os pacientes. Obrigada pela torcida de sempre!

Aos demais médicos da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor, Dra. Amanda Gonzales, Dra. Fabiana Hodas, Dra. Luciana Jannot Matos, Dr. Marcel Costa e Dra. Patrícia Oliveira, pelo suporte médico aos pacientes sempre que necessário, respeito e carinho pelos pacientes e comigo. Dra. Fabi, obrigada pela prontidão e carinho de sempre! Dra. Lu, obrigada pelo apoio nos exames da minha tese sempre que precisei e pelos momentos de diversão fora da Unidade com a Patrícia! Dra Pat, foi uma honra conviver com sua família, especialmente tanto tempo com a Juracy. Obrigada pela confiança, carinho e torcida!

Aos quatro alunos do curso de aprimoramento "Condicionamento Físico Aplicado à Prevenção Cardiológica Primária e Secundária" do InCor, que tive a

oportunidade de orientar em seus trabalhos de conclusão de curso: Clóvis Júnior, Gabriel Iraha, Leila Dal Poggetto e Priscila Formaggio. Com vocês refleti mais sobre os meus dados, tive novamente a oportunidade de orientar e incentivo para me aprimorar cada vez mais. Obrigada pela vivência juntos e pela amizade. Agradeço também a todos os aprimorandos que passaram nestes anos, pelo auxílio no treinamento físico dos pacientes e pela forma carinhosa com que os tratavam.

Ao amigo Cláudio da bioengenharia clínica pelo suporte técnico dos equipamentos do laboratório “em tempo real”, sempre que precisávamos. E aos funcionários da coleta de sangue, em especial Hugo, José e Marli. Obrigada a todos vocês também pela amizade, apoio incentivo e por tornarem os momentos de utilização destes serviços, prazerosos e animados com conversas sobre a vida.

Às queridas secretárias da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício Fabiana Guimarães, Mari Santos, Mônica Marques, Rosângela Aureliano e Sandra Sino. Vocês são o primeiro contato dos nossos pacientes com a Unidade para a realização dos exames, gostaria de agradecer todo carinho e respeito. Além de toda disponibilidade em resolver os problemas burocráticos do cotidiano e pela alegria contagiante no auxílio das comemorações da Unidade. Adoro vocês! Obrigada por todo carinho, amizade e apoio em todos os momentos!

As secretárias da Comissão Científica do Incor, Elaine Lagonegro e Fabiana Panham, pela eficiência e responsabilidade nas questões referentes ao projeto, sempre com gentileza e carinho. Obrigada pela torcida de sempre.

Aos mestres que tive em toda minha formação acadêmica desde a graduação na Universidade Estadual da Paraíba, mestrado na Universidade Federal de Pernambuco, doutorado na FMUSP e disciplinas no ICB da USP. Vocês foram as minhas inspirações para seguir nesta área acadêmica, tentando sempre o equilíbrio na medida do possível entre a docência, pesquisa e a assistência. E aos não menos importantes mestres da época do Colégio Damas, vocês fundamentaram em mim o prazer e o hábito de estudar.

As amigas do colégio para a vida, Elen Borba, Elisabeth Tolke, Fernanda Albuquerque e Luedja Karla. Compartilhamos virtualmente nosso dia a dia, alegrias e tristezas, e nada mais justo do que compartilhar esta grande benção com você também.

Agradeço em especial aos amigos que abriram as portas de suas casas para mim nas diversas cidades que morei: Zuleika Amaral e família (Netinho, Marielza, Tito, Marinalva, Ageu e Juca); Patrícia Karla, tia Coca e Emily; Valdilene Laudelino e família (Valéria, D. Geni Alves e Berg); João Batista e Sônia; Milka Santana e sua querida mãe, D. Antônia; as Profas. Dras. Amparo Andrade, Anna Myrna Jaguaribe e Caroline Wanderley; Hélio e Monalisa; e, Tatiane e Paulo. Nenhuma palavra seria capaz de descrever todo o carinho e consideração que tenho por vocês. Vocês se tornaram extensão da minha família e mesmo distante, louvo ao Senhor todos os dias pela presença de vocês em minha vida.

Por fim, o doutorado sanduíche só se realizou pelo incentivo, trabalho e apoio de várias pessoas, as quais serei terenamente grata.

A Profa. Dra. Ludhmila Abrahão Hajjar, coordenadora da Pós-Graduação em Cardiologia. Conheci poucas mulheres com tamanha garra, ousadia e determinação. Seu comprometimento com o crescimento da Pós-Graduação, o incentivo e a luta pela oportunidade de internacionalização para todos os alunos, seu fascínio pela ciência e

dinamismo nas discussões durante as reuniões da pós-graduação durante meu período de representante discente, são inspirações para toda a minha vida!

Às secretárias da Pós-Graduação em Cardiologia, Neusa Dini, Juliana Lattari, Mônica Souto e Valdecira Barbosa, pela agilidade e eficiência em todas as questões burocráticas, permitindo a liberação de todos os documentos necessários dentro do prazo. Também pela alegria compartilhada com cada conquista, em cada comemoração. A Secretária é a interface da Pós-Graduação com o aluno, e não poderia ter melhor qualidade. Mais um motivo para o sucesso da Pós!

Ao doutorando Anderson Aoki, meu amigo, foi um prazer compartilhar toda a vivência e aprendizado que a Representação Discente proporciona!

A Dra. Juliana Caldas, por ter me incentivado inúmeras vezes e me auxiliado em toda a documentação necessária para concorrer ao doutorado sanduíche. Ju, acreditei quando você falou que “estava sentindo que eu ia conseguir” e graças a Deus, deu certo mesmo! Não tenho palavras para agradecer, amiga! Além disso, você é um exemplo de dedicação, perseverança e “hard work”. Brilhará onde estiver!

Já em Toronto, agradeço ao meu co-orientador, Prof. Dr. Scott Thomas, por me receber em seu laboratório, sob sua supervisão, mesmo após quase dois anos de tentativas. Pelo respeito e carinho com que me tratou durante todo o meu período de estágio. Obrigada pela oportunidade de analisar e discutir dados da minha tese com um pesquisador com a sua expertise e excelência na área, participar da elaboração de novos projetos e contribuindo de forma enriquecedora para minha tese.

Gostaria de agradecer aos amigos que fiz no “Training & Performance Laboratory” da Universidade de Toronto, em especial a Rachel Micay, Gerome Manson, Rob, Dan Merino e Steph. Minha gratidão vai muito além da oportunidade de aprender novos exames e análises! Obrigada pelo carinho, cuidado, e por tão rapidamente terem me inserido nos exames do laboratório, na discussão de dados dos projetos, no grupo de whatsapp do laboratório e em todas as comemorações.

As queridas “roommates” Elisângela da Silva e Mara Reis. O Senhor providenciou as melhores companhias para mim em Toronto! Dividimos todos os dias nossas experiências de vida, sonhos, alegrias... porque não havia tristeza perto de vocês! Guardarei todos os momentos e as boas risadas para sempre em meu coração!

A Prof. Dra. Maria do Socorro Brasileiro-Santos, pela oportunidade de pela segunda vez receber suas orientações. Você que me orientou no mestrado, através da sua parceria com a Universidade de Toronto me deu novamente a oportunidade de desfrutar de toda a sua expertise e grande conhecimento nesta área na discussão dos dados. Muito obrigada pela confiança de sempre, pelas longas conversas ao telefone sobre os valores da vida e também sobre ciência. Agradeço imensamente sua amizade e tudo o que aprendi e aprendo com você ao longo de todos estes anos.

Aos amigos que encontrei nesta cidade, em especial a Kênia, Ivoni e Darlon Almeida, e a Dorinha e Sergio Silva. Obrigada pelo carinho, cuidado, momentos maravilhosos e passeios de fins de semana para conhecer Toronto e as cidades vizinhas. Obrigada pela confiança, amizade e tão prontamente me acolherem.

A FAPESP pela colaboração financeira para a pesquisa (#2010/50048-1). Ao CNPQ pela concessão da bolsa de doutorado (#142179/2013-2) e reserva técnica que viabilizou o privilégio de apresentar alguns dados da minha tese no congresso da FASEB

2016, em San Diego. E a bolsa PDSE/CAPES (88881.135917/2016-01), pela concessão da bolsa para doutorado sanduíche.

Ao Instituto do Coração (HC-FMUSP) pela estrutura acadêmico-científica que proporcionou meu crescimento durante todo este período.

Aos pacientes desta tese, fonte de inspiração na busca do conhecimento. Se dedicaram com entusiasmo aos horários de treinamento físico, mesmo diante da rotina de trabalho, dos compromissos pessoais e muitas vezes, da distância. Espero que esta tese seja um pequeno auxílio, para juntamente com outros trabalhos, melhorar a assistência oferecida a vocês.

“Há amigo mais chegado que irmão”. Finalizo agradecendo a todos os meus amigos, independente do tempo e da distância, esta vitória é nossa!

Epígrafe

“Tudo é possível ao que crê”

Marcos 9:23

“Não paute sua vida, nem sua carreira, pelo dinheiro. Ame seu ofício com todo coração. Persiga fazer o melhor. Tudo que fica pronto na vida foi construído antes, na alma. Você foi criado para caminhar sempre, com um saco de interrogações na mão e uma caixa de possibilidades na outra... E só o trabalho lhe leva a conhecer pessoas e mundos que os acomodados não conhecerão. Isso se chama sucesso.”

Nizan Guanaes

Normalização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVO	12
2.1	Objetivo geral:	12
2.2	Objetivos específicos:	12
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	13
3.1	Desenho do estudo	13
3.2	Casuística	13
3.3	Medidas e Procedimentos	17
3.3.1	Programa de treinamento físico aeróbico	17
3.3.2	Avaliações	18
3.4	Sequência Experimental.....	33
3.5	Análise estatística.....	35
4	RESULTADOS	37
4.1	Características pré-intervenção.....	37
4.2	Efeito do treinamento físico aeróbico na modulação autonômica cardiovascular	39

4.3	Associações entre as alterações da ANSM e as alterações na sensibilidade barorreflexa cardíaca, atividade simpática vasomotora e atividade simpática cardíaca	47
4.4	Efeito do treinamento físico aeróbico no tecido muscular esquelético.....	48
4.4.1	Efeito do treinamento físico aeróbico na área de secção transversa e na distribuição dos tipos das fibras musculares.....	48
4.4.2	Efeito do treinamento físico aeróbico no metabolismo oxidativo das fibras musculares	52
4.4.3	Efeito do treinamento físico aeróbico no estresse oxidativo das fibras musculares	53
4.4.4	Efeito do treinamento físico aeróbico na expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1 na musculatura esquelética	54
4.5	Associação entre as alterações na ANSM e na expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1 no músculo esquelético.....	55
4.6	Sumário dos resultados	56
5	DISCUSSÃO	58
5.1	Implicações clínicas	64
5.2	Limitações.....	65
6	CONCLUSÃO.....	66
7	Referências	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema resumido do controle barorreflexo da frequência cardíaca	6
Figura 2.	Desenho do estudo.	14
Figura 3.	Planejamento experimental.	15
Figura 4.	Técnica da microneurografia	20
Figura 5.	Exemplo de um neurograma	20
Figura 6.	Medida da pressão arterial batimento a batimento	21
Figura 7.	Registro de sinal da PA.....	21
Figura 8.	Protocolo de avaliação da sensibilidade barorreflexa cardíaca.....	23
Figura 9.	Análise de regressão linear (resposta à infusão de fenilefrina).....	23
Figura 10.	Análise de regressão linear (resposta à infusão de nitroprussiano de sódio)	24
Figura 11.	Pletismografia de oclusão venosa	25
Figura 12.	Procedimento da biópsia do músculo vasto-lateral.....	27
Figura 13.	Fluxograma das visitas e avaliações realizadas no início e ao término do protocolo	35
Figura 14.	Capacidade funcional (VO_2 pico) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).....	41
Figura 15.	Atividade nervosa simpática muscular (ANSM) em repouso em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).	42
Figura 16.	Gráfico de regressão linear para sensibilidade barorreflexa cardíaca do grupo ChT, durante aumento e queda da PAS.	45

Figura 17.	Gráfico de regressão linear para sensibilidade barorreflexa cardíaca do grupo ChNT, durante aumento e queda da PAS.	45
Figura 18.	Fluxo sanguíneo muscular da perna em repouso (FSM) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).	46
Figura 19.	Condutância vascular da perna em repouso (CVP) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).	47
Figura 20.	Efeito do treinamento físico aeróbico pré e pós nas AST - Fibras tipo I. ChT	49
Figura 21.	Efeito do treinamento físico aeróbico pré e pós nas AST - Fibras tipo II. ChT	50
Figura 22.	Imunofluorescência pré e pós-treinamento físico aeróbico da área de secção transversa e tipos de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT).....	51
Figura 23.	Imunohistoquímica pré e pós-treinamento físico aeróbico para a enzima succinato desidrogenase de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT).....	52
Figura 24.	Produtos da oxidação da dihidroetidina pré e pós-treinamento físico aeróbico de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT).....	53

Figura 25.	Expressão gênica de Atrogin-1 em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).....	54
Figura 26.	Expressão gênica de MuRF-1 em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT).....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Primers.....	33
Tabela 2.	Características físicas, clínicas e função cardíaca dos grupos do período pré-intervenção	38
Tabela 3.	Parâmetros hemodinâmicos e neurovasculares e capacidade funcional no período pré-intervenção	39
Tabela 4.	Função cardíaca e parâmetros hemodinâmicos nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico	40
Tabela 5.	Variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico.....	43
Tabela 6.	Sensibilidade barorreflexa cardíaca nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico	44
Tabela 7.	Regressão linear bivariada.....	48
Tabela 8.	Regressão linear bivariada.....	56
Tabela 9.	Comparação dos resultados entre dois grupos ChT e ChNT.....	57

Resumo

RESUMO

Cruz, ASO. Efeito do treinamento físico na modulação autonômica cardiovascular e no tecido muscular esquelético em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Introdução: Pacientes com cardiopatia chagásica têm hiperatividade do sistema nervoso simpático, piorando o prognóstico destes pacientes. Estão bem estabelecidos os benefícios do treinamento físico aeróbico (TF) no controle autonômico cardiovascular e na musculatura esquelética de pacientes com cardiopatia e disfunção ventricular. A hipótese da tese seria que o TF melhorasse a função autonômica cardiovascular e a estrutura e metabolismo muscular de pacientes com cardiopatia chagásica crônica (CCC) mesmo com função sistólica preservada, tendo em vista que parte destes pacientes evolui para a forma dilatada com disfunção ventricular e suas graves consequências. **Objetivo:** Avaliar o efeito do TF no controle autonômico cardiovascular e no tecido muscular esquelético em pacientes com CCC e função sistólica preservada. **Métodos:** Foram incluídos pacientes com duas reações sorológicas positivas para a doença de Chagas, alterações eletrocardiográficas, fração de ejeção do ventrículo esquerdo $\geq 55\%$ e idade entre 30 e 60 anos. Vinte e quatro pacientes foram submetidos à primeira série de avaliações e foram randomizados em dois grupos: doze pacientes com CCC e função ventricular sistólica preservada submetidos ao TF além do seguimento clínico (ChT) e doze pacientes com CCC e função ventricular sistólica preservada não submetidos ao TF, apenas ao seguimento clínico (ChNT). Após quatro meses, oito pacientes finalizaram o protocolo de treinamento físico (ChT, n=08) e dez pacientes finalizaram o seguimento clínico (ChNT, n=10). A atividade nervosa simpática muscular (ANSM) foi avaliada pela técnica de microneurografia e o fluxo sanguíneo muscular (FSM) pela técnica de pletismografia de oclusão venosa. Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial foram analisadas utilizando sinais da frequência cardíaca captadas pelo eletrocardiograma e sinais da pressão arterial captados pelo finometer. A sensibilidade barorreflexa cardíaca foi avaliada com infusão de drogas vasotivas. A capacidade funcional foi avaliada pelo teste cardiopulmonar. A biópsia do músculo vasto-lateral foi

realizada para as análises histológicas das fibras musculares e para avaliação da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1. O programa de TF foi realizado durante quatro meses, constando de 3 sessões semanais supervisionadas com duração aproximada de 60 minutos. **Resultados:** Como marcadores de TF, houve redução da frequência cardíaca de repouso e aumento do consumo de oxigênio pico. O TF diminuiu a hiperatividade simpática, colaborando para o aumento do FSM. O treinamento físico reduziu tanto a ANSM, quanto a atividade simpática cardíaca e vasomotora, e melhorou a sensibilidade barorreflexa cardíaca. A redução da ANSM esteve associada a redução da hiperatividade cardiovascular, melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca e redução da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1. Após período de quatro meses, o grupo ChT apresentou menor expressão gênica de Atrogin-1 em relação ao grupo ChNT. **Conclusão:** O TF provocou expressiva melhora na disfunção autonômica, no FSM e na capacidade funcional de pacientes com CCC e função sistólica preservada. Adicionalmente, a redução da ANSM esteve associada a melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca, redução do tônus simpático cardiovascular e redução da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1, genes envolvidos na atrofia muscular.

Descritores: Cardiomiopatia chagásica; Sistema nervoso simpático; Barorreflexo; Músculo esquelético; Expressão gênica; Exercício.

Abstract

ABSTRACT

Cruz, ASO. Effects of exercise training on cardiovascular autonomic modulation and skeletal muscle tissue in chagasic cardiopathy patients and preserved systolic function [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Background: Patients with chagasic cardiomyopathy have sympathetic nervous system hyperactivity, worsening the prognosis of these patients. The benefits of aerobic training (ET) in cardiovascular autonomic control and skeletal muscle of heart failure patients are well established. The thesis hypothesis was that ET improves cardiovascular autonomic function and structure and metabolism muscle in chronic chagasic cardiopathy (CCC) patients even though preserved systolic function, considering that part of these patients develop the dilated form with ventricular dysfunction and its serious consequences.

Objectives: To evaluate the effects of ET on cardiovascular autonomic control and skeletal muscle tissue in CCC patients and preserved systolic function. **Methods:** Patients with two positive serological reactions for Chagas disease, electrocardiographic alterations, left ventricular ejection fraction $\geq 55\%$ and age between 30 and 60 years were included. Twenty-four patients underwent the first stage of evaluations and were randomized into two groups: Twelve CCC patients and preserved systolic ventricular function submitted to ET in addition to clinical follow-up (ET group) and twelve CCC patients and preserved systolic ventricular function submitted to only clinical follow-up not submitted to ET (NoET group). After four months, eight patients completed the ET protocol (ET, n = 08) and ten patients completed clinical follow-up (NoET, n = 10). Muscular sympathetic nerve activity (MSNA) was measured using microneurography technique and muscle blood flow (MBF) by the venous occlusion plethysmography technique. Heart rate and blood pressure variability were analyzed using heart rate signals captured by the electrocardiogram and blood pressure signals captured by the finometer. Cardiac baroreflex sensitivity was evaluated by infusion of vasoactive drugs. Functional capacity was determined by cardiopulmonary exercise test. Vastus lateralis muscle biopsy was performed for the histological analysis of muscle fibers and for the Atrogin-1 and MuRF-1 gene expression evaluation. ET program consisted of three 60-minute exercise

sessions per week for four months. **Results:** As ET markers, there was a reduction in resting heart rate and an increase in peak oxygen consumption. ET reduced the sympathetic hyperactivity, contributing to the increase of the MBF. ET reduced both MSNA, as well as cardiac and vasomotor sympathetic activity, and improved cardiac baroreflex sensitivity. Reduction of MSNA was associated with a reduction in cardiovascular hyperactivity, improved cardiac baroreflex sensitivity, and reduced Atrogin-1 and MuRF-1 gene expression. After the four-month period, the ET group presented lower Atrogin-1 gene expression than the NoET group. **Conclusion:** ET improved significantly autonomic dysfunction, MBF and functional capacity of CCC patients and preserved systolic function. In addition, the reduction of ANSM was associated with improved cardiac baroreflex sensitivity, reduced sympathetic cardiovascular tone, and reduced Atrogin-1 and MuRF-1 gene expression, genes involved in muscle atrophy.

Descriptors: Chagas Cardiomyopathy; Sympathetic Nervous System; Baroreflex; Muscle, Skeletal; Gene Expression; Exercise.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, também chamada tripanosomíase americana, é uma doença infecciosa causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*¹. Embora haja controvérsias quanto a epidemiologia da doença de Chagas, a Organização Mundial de Saúde estima que existam cerca de 8 milhões de pessoas no mundo infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, principalmente na América Latina, onde a doença de Chagas é endêmica. Destas, cerca de quatro milhões e seiscentas mil estariam no Brasil²⁻⁴. Atualmente, por causa da imigração de indivíduos com sorologia positiva para países não endêmicos, a doença de Chagas não está mais restrita à América Latina, e vem se tornando um problema mundial, por conta da intensificação do fluxo migratório, acometendo aproximadamente 300 mil indivíduos entre os imigrantes legais dos Estados Unidos⁵⁻⁷.

A mortalidade é alta nos pacientes com cardiopatia chagásica com comprometimento cardíaco mais grave e os mesmos podem apresentar limitação e/ou incapacidade física, prejudicando as atividades da vida diária e profissionais⁸. A cardiopatia chagásica correspondeu a 20% dos casos de insuficiência cardíaca, classe funcional III ou IV, em pesquisa realizada em hospital terciário de atendimento cardiológico no Brasil⁹ e apresenta pior prognóstico, quando comparada a de outras etiologias para o mesmo grau de disfunção ventricular¹⁰.

No Brasil, a forma mais conhecida de transmissão desta doença é a vetorial, que acontece pelo contato da pele ou mucosas com fezes ou urina de insetos da família *Reduviidae* infectados com o *Trypanosoma cruzi*¹¹. A infestação também pode ocorrer por via transfusional, que vem se tornando cada vez menos frequente devido ao maior controle dos bancos de sangue^{12,13}. Raramente a transmissão pode acontecer por via

transplacentária, manipulação inadequada de material contaminado, transplante de órgãos infectados ou ingestão de alimentos contaminados^{12,14}. Atualmente, no Brasil a principal forma de transmissão da doença é por via oral, através da ingestão de alimentos contaminados como suco de cana de açúcar e açaí, resulta em manifestação clínica aguda mais severa e alta mortalidade¹.

Após a infestação ocorre um período de incubação de 4 a 10 dias seguido da fase aguda, que é caracterizada por elevada parasitemia e reações inflamatórias sistêmicas, porém habitualmente com poucas manifestações clínicas e baixa mortalidade. Esta fase estende-se por dois a quatro meses, quando se inicia a fase crônica^{13,15}. Na fase crônica, a apresentação clínica mais comum (cerca de 60 a 70% dos indivíduos infectados) da doença de Chagas é a forma indeterminada, definida por duas reações sorológicas positivas para a doença, ausência de sintomas cardiovasculares e digestivos, e eletrocardiograma, estudo radiológico de tórax e exames contrastados de esôfago e cólon normais. Os pacientes podem permanecer na forma indeterminada durante toda a vida e, nessas condições, têm boa evolução e prognóstico favorável, ou podem evoluir para formas mais graves da doença (cardíaca e/ou digestiva), usualmente após um período de 20 anos ou mais^{15,16,17}.

Cerca de 30 a 40% dos infectados desenvolvem manifestações clínicas da doença (cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva). A cardiopatia chagásica crônica, caracterizada por uma cardiopatia inflamatória e fibrótica, e ocorre em 20 a 30% dos infectados^{18,19}. A maioria destes indivíduos é pouco sintomática, apresenta alterações eletrocardiográficas, porém a função sistólica está preservada. Apenas 10% dos infectados evoluem com cardiopatia acentuada com disfunção ventricular de graus variados²⁰. As alterações eletrocardiográficas mais comuns são bloqueio completo de ramo direito associado ou não a bloqueio divisional ântero-superior e distúrbios da condução átrio-ventricular de

diversos graus. Áreas eletricamente inativas, arritmias atriais e ventriculares também podem estar presentes¹⁵. O aparecimento destas anormalidades pode estar relacionado à lesão do tecido do sistema de condução e ao surgimento de fibrose miocárdica decorrentes da cardiopatia chagásica²¹, sendo que algumas delas são preditoras de mortalidade nesta doença²².

Ainda não estão totalmente esclarecidos os fatores que levam cerca de 30% dos indivíduos infectados a desenvolverem a cardiopatia chagásica crônica, enquanto os demais permanecem nas formas indeterminada ou digestiva sem dano cardíaco significativo. Os principais mecanismos patogênicos que podem influenciar a evolução da forma indeterminada para a cardiopatia chagásica crônica são: disautonomia cardíaca, anormalidades da microcirculação coronária, lesão direta no miocárdio causada pelo *T. cruzi* e respostas imunológicas desencadeadas por ele de acordo com fatores genéticos^{18,21}.

A cardiopatia chagásica tem como importante característica a hiperatividade do sistema nervoso simpático. A explicação para este fato é controversa, dividida entre duas teorias: o dano irreversível do sistema nervoso parassimpático, causado pelo parasita, levando a crônica estimulação simpática, ou o remodelamento cardíaco, que provoca intensa ativação neuro-humoral²³⁻²⁵. Um estudo demonstrou recentemente que a hiperativação simpática parece ser uma consequência da disfunção ventricular e não dos danos que o parasita provoca no sistema nervoso autônomo. Três importantes resultados deste estudo dão sustentação a essa interpretação: 1) a atividade nervosa simpática muscular (ANSM), avaliada por microneurografia, é significativamente menor nos pacientes com doença de Chagas na forma indeterminada do que naqueles com insuficiência cardíaca; 2) não existe diferença significativa na ANSM de pacientes com doença de Chagas na forma indeterminada e controles saudáveis; e 3) a ANSM é

semelhante na cardiopatia chagásica e em cardiopatias de outras etiologias (isquêmica e idiopática). Neste mesmo estudo foi observada, também, diminuição do fluxo sanguíneo muscular periférico tanto em repouso quanto durante exercício, nos pacientes com cardiopatia chagásica e de outras etiologias, comparados a pacientes com doença de Chagas na forma indeterminada e indivíduos controles saudáveis²³.

Embora o estudo anteriormente citado não observasse aumento da ANSM na forma indeterminada da doença, vários estudos mostram que a hiperatividade simpática cardíaca está presente na doença de Chagas desde a fase inicial, ainda na forma indeterminada. Estes pacientes são privados da ação inibitória tônica normalmente exercida pelo sistema parassimpático no nódulo sinusal, devido à depopulação neuronal, predominantemente do sistema parassimpático cardíaco²⁶. Tais alterações patológicas se acompanham de disautonomia cardíaca. Em consonância com a denervação autonômica parassimpática, a hiperatividade simpática tem sido demonstrada em muitos estudos, mesmo na forma indeterminada da doença²⁷⁻³⁰.

A detecção da disfunção autonômica no contexto da cardiopatia chagásica é importante devido a sua contribuição para o desencadeamento de arritmias complexas, inclusive de morte súbita. Além disso, a disfunção autonômica tem potencial para influenciar outras vias metabólicas e inflamatórias presentes na fisiopatologia da cardiopatia chagásica²¹. Adicionalmente, estudos prévios mostram que quanto maior o tônus simpático pior o prognóstico de pacientes com cardiopatia e disfunção ventricular³¹⁻³³. Um estudo demonstrou que a ANSM e o fluxo sanguíneo muscular são preditores de mortalidade nestes pacientes³⁴. Outro estudo avaliou a sensibilidade barorreflexa cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca e concluiu que a redução da mesma se relaciona ao status clínico e a um pior prognóstico destes pacientes³⁵. Uma vez que os mecanorreceptores ou barorreceptores arteriais são os principais responsáveis pela

regulação da pressão arterial em um curto período de tempo (batimento a batimento), danos na sensibilidade barorreflexa arterial cardíaca resultam no aumento da variabilidade da pressão arterial, que está de forma indireta associada às consequentes lesões de órgãos alvos devido à redução da perfusão tecidual³⁶⁻³⁸. Os barorreceptores são constituídos por terminações nervosas livres que se situam na adventícia de grandes vasos (aorta e carótida) e que são estimulados por deformações das paredes desses vasos^{39,40}.

Durante elevações da pressão arterial acima dos valores basais, há distensão da parede dos vasos e aumento da atividade aferente dos barorreceptores, gerando os potenciais de ação, que são conduzidos ao núcleo do trato solitário (NTS) via nervo glossofaríngeo (fibras carotídeas) e vago (fibras aórticas). Neurônios secundários do NTS excitam neurônios pré-ganglionares do parassimpático localizados no núcleo dorsal motor do vago e no núcleo ambíguo, que por sua vez se projetam (eferentes vagais) aos neurônios pós-ganglionares intramurais situados no coração, aumentando a atividade vagal e reduzindo a frequência cardíaca. Paralelamente, o bulbo ventrolateral caudal é excitado, inibindo os neurônios pré-motores simpáticos do bulbo ventrolateral rostral, reduzindo o tônus simpático. As consequências desta redução do tônus simpático são a diminuição da contratilidade cardíaca, da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica, resultando na redução da pressão arterial. Na situação de queda na pressão arterial, a distensão das paredes dos vasos diminui e os barorreceptores são menos deformados, diminuindo ou suprimindo os potenciais de ação. Desta forma, os neurônios do NTS são menos estimulados ou não são estimulados e deixam de excitar os neurônios pré-ganglionares do núcleo dorsal motor do vago e núcleo ambíguo, reduzindo o tônus vagal. Conseqüentemente, não ocorre excitação do bulbo ventrolateral caudal e há liberação da atividade dos neurônios pré-motores simpáticos do bulbo ventrolateral rostral, aumentando o tônus simpático e ocasionando elevação da contratilidade cardíaca,

frequência cardíaca, débito cardíaco, retorno venoso e resistência periférica, elevando novamente a pressão arterial^{39,40} (**Figura 1**).

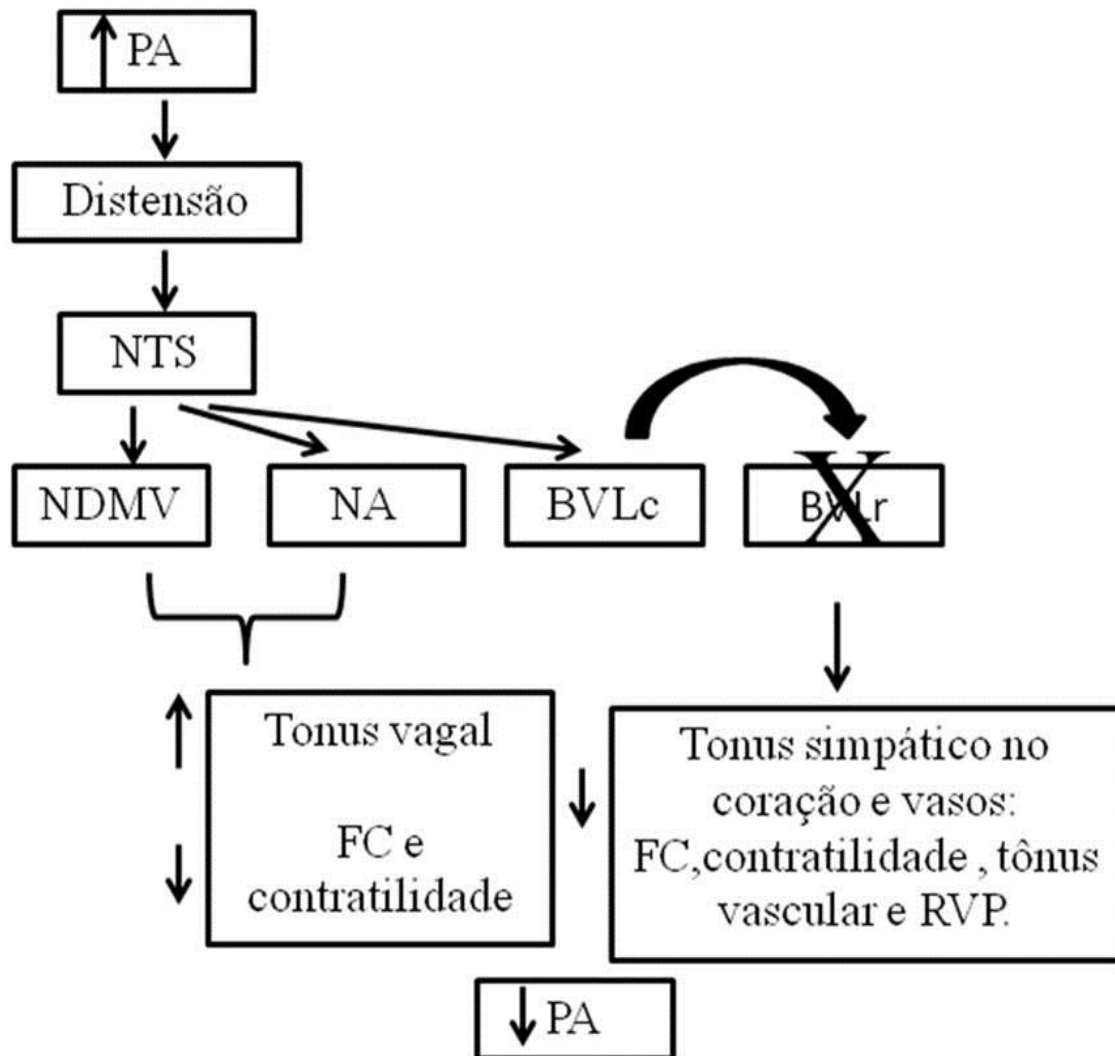


Figura 1. Esquema resumido do controle barorreflexo da frequência cardíaca. NTS= Núcleo Trato Solitário; NDMV= Núcleo Dorso Motor Do Vago; NA= Núcleo Ambíguo; BVLc= Bulbo Ventro-Lateral Caudal; BVLr= Bulbo Ventro-Lateral Rostral; RVP = Resistência Vascular Periférica, PA = Pressão Arterial

Em estudo recente, comparando a sensibilidade barorreflexa cardíaca e a ANSM de pacientes com cardiopatia chagásica com alterações eletrocardiográficas e função sistólica preservada em relação a indivíduos saudáveis, observou-se redução da sensibilidade barorreflexa e aumento da ANSM nos pacientes nesta fase da doença⁴¹. Outros estudos, com pacientes na mesma fase da Doença de Chagas, cardiopatia

chagásica com alterações eletrocardiográficas e função sistólica preservada, também observaram disfunção autonômica, pela redução da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar²⁴ e do aumento da sensibilidade quimiorreflexa central e periférica²⁵. Esta é a fase da doença estudada nesta tese, sendo a fase intermediária entre a forma indeterminada, manifestação crônica inicial da doença, e a cardiopatia chagásica com disfunção ventricular, forma mais grave da doença.

É conhecido que a atividade simpática cronicamente elevada está relacionada ao surgimento de importantes anormalidades na musculatura esquelética periférica em animais com insuficiência cardíaca⁴². Atrofia muscular, menor concentração de enzimas oxidativas, maior proporção de fibras tipo II (glicolíticas), redução no número e no tamanho das mitocôndrias, maior estresse oxidativo, menor capilarização diminuem a capacidade oxidativa do músculo esquelético à medida que piora a evolução da doença, afetando a capacidade funcional na insuficiência cardíaca⁴³⁻⁴⁶. Algumas destas alterações são observadas também na insuficiência cardíaca por miocardiopatia chagásica, e até mesmo em pacientes sem disfunção ventricular^{47,48}.

Alguns autores realizaram avaliações histológicas na musculatura esquelética de pacientes com cardiopatia chagásica, com e sem disfunção ventricular^{47,48} e em modelos experimentais da forma crônica da doença de Chagas⁴⁹⁻⁵¹. Na fase aguda, a invasão e replicação de *Trypanosoma cruzi* em cardiomiócitos e outros tecidos induzem lesões celulares e reações citotóxicas, com a produção de citocinas inflamatórias e óxido nítrico, ambas fontes de espécies reativas de oxigênio. A resposta do tecido muscular ao estresse oxidativo envolve a progressão das alterações celulares supracitadas, principalmente nas mitocôndrias. Os autores avaliaram os músculos vasto-lateral e medial, reto-femoral e sartório de ratos⁵¹. Os autores observaram que nestas organelas haviam alterações estruturais como a desorganização de suas cristas, reduzindo a funcionalidade do ciclo de

Krebs constatada pela menor atividade da citrato sintase, durante a fase aguda da infecção em ratos infectados pelo parasita. Os autores concluíram que as mudanças estruturais nas mitocôndrias do músculo esquelético e sua disfunção da atividade enzimática começaram na fase aguda da infecção, provavelmente modificando a capacidade das mitocôndrias de gerar energia, mas estas mudanças não foram compensadas no restante das fases da infecção crônica, repercutindo também em alterações musculares esqueléticas permanentes do músculo esquelético⁵¹.

Esta redução da capacidade oxidativa da musculatura esquelética também foi observada por outro grupo de pesquisadores, que realizaram biópsias musculares em vasto-lateral e quadríceps em pacientes chagásicos com cardiopatia chagásica com e sem disfunção ventricular e observaram além da menor atividade da enzima citrato sintase (baixa capacidade oxidativa), uma maior proporção de fibras II (glicolíticas). Os autores sugeriram que disfunções na microvasculação muscular, pela presença de capilares mais fechados ou com paredes mais espessas, estão relacionadas a redução do fornecimento de oxigênio, podendo prejudicar a extração de oxigênio e, portanto, reduzir a tolerância aos esforços destes pacientes⁴⁷.

Adicionalmente, outro estudo também realizou biópsias de músculo vasto-lateral de pacientes com cardiopatia chagásica com e sem disfunção ventricular e observaram que a relação capilar/fibra muscular e o número de capilares adjacentes às fibras de tipo I eram menores nos pacientes com a doença de Chagas em relação a indivíduos saudáveis. A redução do número de capilares por fibra e as anormalidades nos capilares podem produzir uma mudança para o metabolismo muscular anaeróbico, acompanhado pela maior proporção de fibras IIX, podendo contribuir para o prejuízo no desempenho muscular dos chagásicos⁴⁸. Este prejuízo pode estar relacionado a reduzida capacidade

funcional máxima de pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada, conforme demonstrado por nosso grupo⁵².

Estudos em camundongos, com a doença de Chagas manifestada em sua forma crônica, sugerem seletividade do parasita por infectar fibras do tipo I (oxidativas) na fase aguda da doença, permanecendo na fase crônica em alguns pacientes^{49,50}. O primeiro estudo foi realizado em músculos de camundongos cronicamente infectados com *Trypanosoma cruzi*, e os autores observaram havia menor proporção fibras tipo I (oxidativas)⁴⁹. O segundo estudo, que avaliou músculos da perna dos camundongos, infectados pela doença de Chagas, mostrou que, embora estivessem notavelmente mais fibras de tipo II nos músculos das pernas, a porcentagem de fibras infectadas do tipo I era quase cinco vezes mais alta do que o tipo II⁵⁰.

Mediante a presença da disfunção autonômica e das alterações na estrutura e metabolismo muscular em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada, é muito importante o desenvolvimento de estratégias de tratamentos capazes de reverter ou melhorar essa disfunção nestes pacientes. Desta forma, o prognóstico poderia ser melhorado. Estas estratégias de tratamento poderiam retardar a evolução ou até mesmo prevenir a instalação da insuficiência cardíaca, tendo em vista que parte destes pacientes evolui para a forma dilatada com disfunção ventricular e suas graves consequências.

Está bem estabelecido na literatura que o treinamento físico melhora a disfunção autonômica característica da cardiopatia com disfunção ventricular. O treinamento físico aeróbico reduz a atividade nervosa simpática muscular⁵³⁻⁵⁹ e um dos mecanismos para esta redução pode ser o aumento da sensibilidade barorreflexa simpática, conforme observado em estudo com pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia chagásica e outras etiologias⁶⁰. Não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito do

treinamento físico aeróbico no controle autonômico cardiovascular em pacientes com cardiopatia sem disfunção ventricular de outras etiologias.

Na musculatura esquelética periférica, o treinamento físico aeróbico resulta em aumento da atividade de enzimas oxidativas, aumento na proporção de fibras tipo I e alterações estruturais na mitocôndria em pacientes com insuficiência cardíaca^{61,62}. Estas alterações têm papel importante no aumento da capacidade funcional e da qualidade de vida induzidas pelo treinamento físico aeróbico, considerando que a miopatia esquelética piora o quadro clínico destes pacientes. Esta importância se deve também aos efeitos do treinamento físico aeróbico na redução da expressão de genes envolvidos na deflagração de atrofia muscular, como atrogin-1 e MuRF-1^{63,64}, avaliados em músculo plantar de camundongos com insuficiência cardíaca; e na redução da expressão gênica de MuRF-1, avaliada em músculo vasto-lateral, em pacientes com insuficiência cardíaca⁶⁴. Este conhecimento que é de grande importância já que parte dos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada evolui para a forma dilatada com disfunção ventricular.

A massa muscular é regulada por turnover proteico, que é o equilíbrio entre os mecanismos que regulam a síntese e a degradação de proteínas do músculo. Com relação à degradação proteica, são conhecidos quatro sistemas de degradação proteolíticos envolvidos na atrofia muscular: sistema de sinalização das caspases, de sinalização das calpaínas dependentes de cálcio, de proteases lisossomais (catepsinas), e o sistema ubiquitina-proteassoma⁶⁵⁻⁶⁷. O sistema ubiquitina-proteassoma destaca-se por ser a via mais importante na proteólise muscular^{68,69}.

A proteólise seletiva requer a ubiquitinação, ou seja, a marcação dos substratos proteicos que serão degradados, através da interação entre a proteína a ser degradada e um peptídeo chamado Ubiquitina. A ubiquitinação é ocorre em reações químicas que

requerem a ação coordenada de três enzimas: a enzima Ativadora de Ubiquitina (E1), a enzima Conjugadora de Ubiquitina (E2) e a enzima Ubiquitina-Ligase (E3), também conhecida por E3-Ligase. As E3-ligasas são responsáveis pela especificidade da ubiquitinação, catalisando a transferência da cadeia de ubiquitinas à proteína-alvo, a qual é subsequentemente degradada pelo Proteossoma, complexo de proteínas que degradam as proteínas marcadas durante a ubiquitinação^{68,70}.

As principais E3-ligasas são a atrogin-1 (Muscle Atrophy F-box), e a MuRF-1 (*Muscle RING Finger 1*) e a perda muscular está relacionada com a atividade das mesmas⁷¹. A atrogin-1 e o MuRF1 são expressos seletivamente no tecido muscular (cardíaco e esquelético) de humanos e outros animais em situações que envolvem a atrofia muscular^{66,71}. A atrogin-1 está envolvida em processos como caquexia, imobilização e desnervação⁶⁵⁻⁶⁷. A MuRF-1 é reconhecida como marcador do processo de atrofia muscular⁷¹, associada à ubiquitinação dos componentes miofibrilares, como a titina⁷², a terceira proteína muscular mais abundante.

Diante das evidências dos benefícios do treinamento físico aeróbico na função autonômica cardiovascular e na estrutura e metabolismo muscular de pacientes com cardiopatia com disfunção ventricular de etiologia chagásica e outras etiologias, nossa hipótese é que o treinamento físico aeróbico melhore a função autonômica cardiovascular e a estrutura e metabolismo muscular de pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada, reduzindo a atividade nervosa simpática, aumentando a sensibilidade barorreflexa cardíaca, o fluxo sanguíneo muscular e a capacidade funcional destes pacientes, e que essa melhora autonômica esteja associada à melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca, que controla a atividade simpática cardíaca, e a redução da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1, genes envolvidos na atrofia muscular.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral:

Avaliar o efeito do treinamento físico aeróbico no controle autonômico cardiovascular e no tecido muscular esquelético em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada.

2.2 Objetivos específicos:

Avaliar o efeito do treinamento físico aeróbico em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada em:

- Atividade nervosa simpática muscular;
- Modulação autonômica cardíaca;
- Modulação autonômica vascular;
- Sensibilidade barorreflexa cardíaca;
- Fluxo sanguíneo muscular da perna;
- Condutância vascular da perna;
- Capacidade funcional;
- Área de secção transversa e tipos de fibras musculares;
- Capacidade oxidativa e estresse oxidativo da musculatura esquelética;
- Expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1 na musculatura esquelética.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

O presente estudo foi prospectivo, randomizado, e foi avaliado e aprovado pela Comissão Científica do Instituto do Coração (SDC 3523/10/112) e Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq 0660/10). O projeto está registrado no ClinicalTrials.gov (Identifier NCT02295215).

3.2 Casuística

Como não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a resposta da ANSM frente ao treinamento físico em pacientes com cardiopatia chagásica, adotou-se como referência para cálculo amostral, estudo já publicado pelo mesmo grupo que avaliou efeito do treinamento físico aeróbico na ANSM em pacientes com cardiopatia e disfunção ventricular de etiologia chagásica e outras etiologias⁵⁶, grupo que mais se aproxima da presente casuística. Foi utilizado o programa Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, versão 2.3 (Disponível em <http://www.openepi.com>). Considerou-se um intervalo de confiança de 95% (bidirecional), poder estatístico de 90% e diferença pré e pós-protocolo de treinamento físico de 60 ± 7 para 38 ± 7 disparos/min para a variável ANSM. Neste contexto a amostra calculada foi de seis pacientes. Considerando as possíveis desistências dos pacientes ao longo do protocolo, foi proposta uma casuística de 10 indivíduos por grupo, conforme abaixo descrito (**Figura 2**).

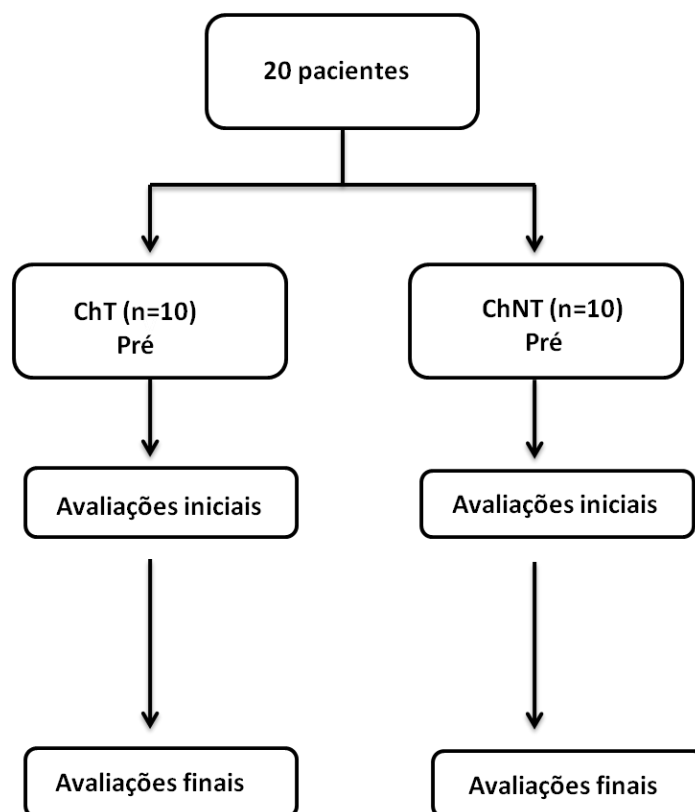


Figura 2. Desenho do estudo. ChT = pacientes com miocardiopatia chagásica treinados
ChNT = pacientes com miocardiopatia chagásica não treinados

Do período de março de 2012 a março de 2015 foram triados todos os 102 pacientes portadores de cardiopatia chagásica e função ventricular sistólica preservada do ambulatório da Unidade Clínica de Miocardiopatias do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Entretanto, 78 pacientes não aceitaram participar do protocolo ou apresentavam critérios de exclusão. Desta forma, os 24 pacientes incluídos no estudo foram informados sobre os procedimentos da pesquisa e, após concordarem, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Os mesmos foram submetidos à primeira série de avaliações que está descrita a seguir e foram randomizados em dois grupos: grupo de pacientes com cardiopatia chagásica e função ventricular sistólica preservada submetidos ao treinamento

físico aeróbico além do seguimento clínico (ChT) e grupo de pacientes com cardiopatia chagásica e função ventricular sistólica preservada não submetidos a treinamento físico aeróbico, apenas seguimento clínico (ChNT). O seguimento clínico consistia de consultas médicas com anamnese e exame físico completo periodicamente. Após quatro meses de treinamento físico aeróbico ou apenas seguimento clínico, os pacientes foram submetidos à segunda série de avaliações (as mesmas avaliações realizadas inicialmente). Oito pacientes finalizaram o protocolo de treinamento físico aeróbico (ChT, n=08) e dez pacientes finalizaram apenas o seguimento clínico (ChNT, n=10). Quatro pacientes do protocolo de treinamento físico aeróbico (ChT) e dois pacientes do seguimento clínico (ChNT) desistiram de realizar a segunda série de avaliações devido a indisponibilidade de continuarem os protocolos por motivos pessoais. O desenho do estudo está mostrado a seguir na (**Figura 3**).

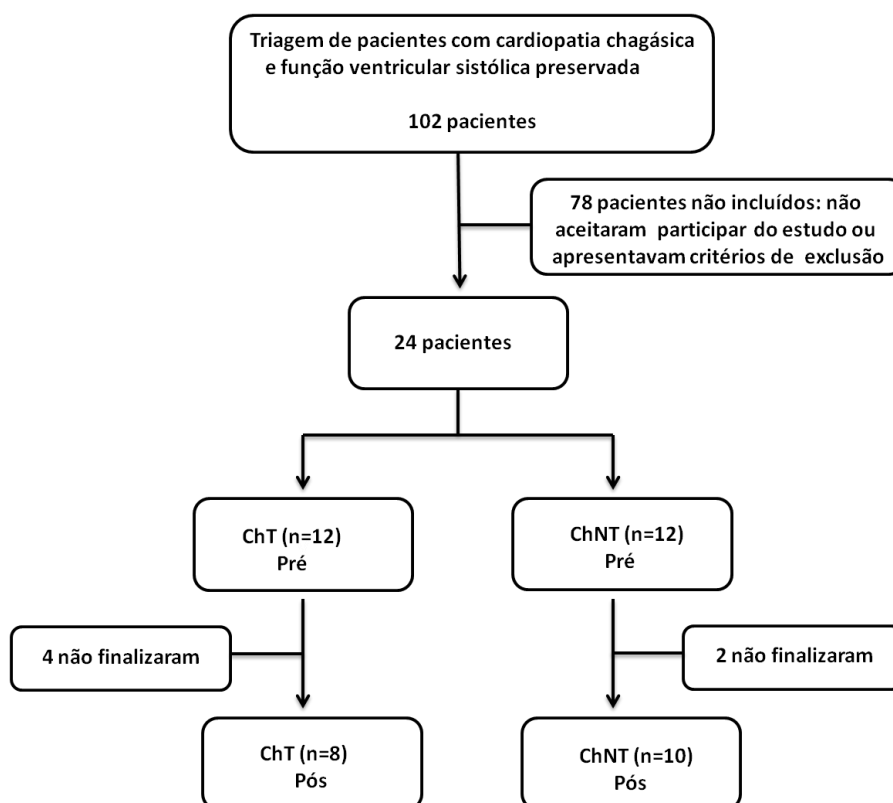


Figura 3. Planejamento experimental. ChT = pacientes com miocardiopatia chagásica treinados. ChNT = pacientes com miocardiopatia chagásica não treinados

A seguir, os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes deste estudo.

Critérios de inclusão:

- Diagnóstico da doença de Chagas (duas reações sorológicas positivas para a doença de Chagas: Elisa e Imunofluorescência);
- Assintomáticos do ponto de vista cardiovascular;
- Ambos os gêneros;
- Idade entre 30 e 60 anos;
- Alterações da condução átrio-ventricular e/ou intra-ventricular: bloqueio de ramo direito do feixe de His associado ou não a bloqueio divisional ântero-superior, bloqueio de ramo esquerdo, bloqueio átrio-ventricular de 1º grau; áreas eletricamente inativas; alterações difusas de repolarização ventricular
- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo $\geq 55\%$ pelo método de Simpson;
- Ter concordado em participar da pesquisa e ter assinado o termo de consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Participação em programa de treinamento físico regular nos últimos 3 meses que antecederam a pesquisa;
- Uso de anticoagulante oral;
- Uso de marcapasso ou cardiodesfibrilador implantável;
- Instabilidade hemodinâmica;
- Infarto do miocárdio, revascularização do miocárdio ou angina instável nos últimos 3 meses do início do protocolo;
- *Diabetes Mellitus* (glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL)⁷³;
- Hipertensão Arterial Sistêmica (PA $\geq 140 \times 90$ mmHg)⁷⁴;

- Doença Pulmonar;
- Lesões valvares;
- Fibrilação atrial;
- Angina de esforço;
- Qualquer fator osteomuscular que impedisse ou prejudicasse o desempenho durante exercício físico;
- Qualquer fator que prejudicasse a compreensão dos procedimentos e dos objetivos da pesquisa.

3.3 Medidas e Procedimentos

3.3.1 Programa de treinamento físico aeróbico

Os participantes do grupo ChT foram submetidos a um programa de treinamento físico contínuo aeróbio em intensidade moderada durante quatro meses, que constava de 3 sessões semanais supervisionadas com duração aproximada de 60 minutos, realizadas na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração⁵⁶. Cada sessão consistia de 5 minutos de aquecimento com exercícios de alongamento; 25 minutos de bicicleta ergométrica ou esteira, em dias alternados, tempo que foi gradativamente aumentado até atingir 40 minutos; 10 minutos de exercícios de resistência muscular localizada; e 5 minutos de desaquecimento com exercícios de alongamento. A intensidade do treinamento foi baseada na frequência cardíaca (FC) entre o limiar anaeróbio e o ponto de compensação respiratória determinados em teste cardiopulmonar. Quando algum efeito de treinamento físico era observado, por menor percepção de esforço pelo paciente (pela escala de Borg) e/ou por redução de 8 a 10% da FC, a intensidade da bicicleta ergométrica e da esteira eram aumentadas gradativamente.

Os pacientes randomizados para o grupo ChNT foram orientados a continuarem as atividades diárias normalmente, durante o período do estudo.

3.3.2 Avaliações

3.3.2.1 Análise eletrocardiográfica

Todos os pacientes da Unidade Clínica de Miocardiopatias do Incor fazem eletrocardiograma de repouso de rotina, independente da participação em projetos de pesquisa. Para seleção dos pacientes deste projeto foi utilizado o mesmo exame já realizado na rotina. O eletrocardiograma de repouso foi realizado e analisado seguindo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia^{75,76}.

3.3.2.2 Análise ecocardiográfica

Os pacientes foram submetidos a estudo ecocardiográfico bidimensional, utilizando o aparelho Sequóia 512 (Acuson, Mountain View, CA), equipado com transdutor multifrequencial, modelo 3V2c, de 2.5-4.0 MHz. A documentação dos exames foi realizada em CD.

Os pacientes foram estudados em decúbito lateral esquerdo, com a cabeça elevada a 30°. Três eletrodos eletrocardiográficos foram colocados na parede torácica, para registro simultâneo do eletrocardiograma no sistema de ultrassom. Foi adquirido um corte apical em dois planos, duas e quatro câmaras.

Foram avaliadas as seguintes medidas ecocardiográficas:

- Volumes sistólico e diastólico do ventrículo esquerdo e a fração de ejeção de ejeção do ventrículo esquerdo

As imagens bidimensionais do ventrículo esquerdo foram utilizadas para os cálculos dos volumes sistólico e diastólico finais biplanos, pelo método de Simpson biplano modificado, através dos cortes ortogonais apicais 4 e 2 câmaras, no final da expiração⁷⁷. O final da sístole foi definido como o tamanho máximo do átrio e tamanho

mínimo do ventrículo esquerdo (geralmente no final da onda T do eletrocardiograma, antes da mitral se abrir). O final da diástole foi determinado como mínimo tamanho atrial e máximo tamanho ventricular (geralmente no pico da onda R do eletrocardiograma, pouco antes do fechamento da valva mitral). A fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi calculada pela seguinte fórmula [(volume diastólico final menos volume sistólico final/volume diastólico final) \times 100]. O volume ventricular foi calculado pela soma do volume de uma série de pequenos cilindros, com base e altura conhecidas (método de Simpson). A partir dos cortes apicais 4 e 2 câmaras, após tentativa de maximização do tamanho do ventrículo esquerdo, com uma ótima visualização do endocárdio, procedeu-se a planimetria, e a medida do diâmetro longitudinal do ventrículo esquerdo.

3.3.2.3 Avaliação da atividade nervosa simpática (microneurografia)

A ANSM foi avaliada na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração, a partir da técnica direta de registro de multiunidade da via pós-gangliônica eferente, do fascículo nervoso muscular, no nervo fibular, imediatamente inferior à cabeça fibular, na perna⁷⁸. Os registros foram obtidos com a implantação de um microeletrodo (Modelo UNA35F2S, FHC Inc) no nervo fibular e de um microeletrodo referência aproximadamente entre um e um centímetro e meio de distância do primeiro (Figura 4). Os eletrodos foram conectados a um pré-amplificador e o sinal do nervo alimentado com um filtro passa-banda e, em seguida, dirigido a um discriminador de amplitude para armazenagem em osciloscópio e em caixa de som (662C-4 Nerve Traffic Analysis System, Bioengineering). Para fins de registro e análise, o neurograma filtrado foi alimentado por um integrador de capacitância-resistência para a obtenção da voltagem média da atividade neural. A ANSM foi avaliada com um registro contínuo da atividade simpática neuromuscular durante todo o protocolo. O sinal do nervo foi analisado pela contagem do número de disparos eferentes simpáticos ocorridos por

minuto (**Figura 5**), por dois avaliadores^{79,80}. Um exemplo de registro de um neurograma de um paciente está mostrado na (**Figura 5**).

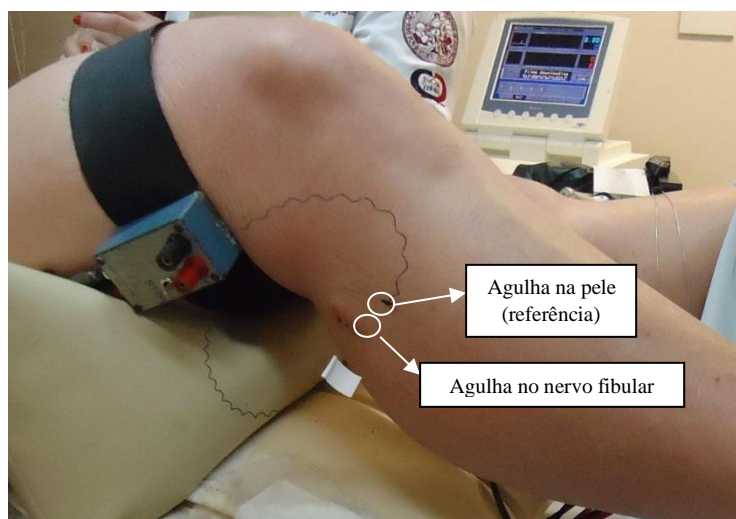


Figura 4. Técnica da microneurografia

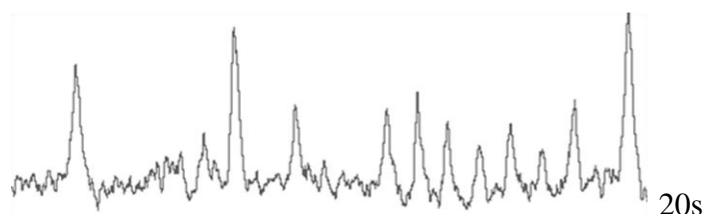


Figura 5. Exemplo de um neurograma

3.3.2.4 Avaliação da frequência cardíaca

Durante o repouso e o protocolo de infusão, a FC foi obtida pelo registro eletrocardiográfico, utilizando a derivação DII. O sinal da FC foi gravado em um computador numa frequência de 500Hz e, em seguida, analisado no programa Windaq.

3.3.2.5 Avaliação da pressão arterial

A pressão arterial (PA) foi aferida continuamente, a cada batimento cardíaco, também durante o repouso e o protocolo de infusão, por técnica não-invasiva. Foi colocado um manguito de tamanho adequado em torno do dedo médio da mão esquerda,

e outro manguito no braço esquerdo (Figura 6), e ambos foram conectados a um monitor (Finometer; FMS Company, Amsterdam, Netherlands), para aferir a pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) a cada batimento cardíaco. Um exemplo de um registro de sinal da PA está mostrado na (Figura 7). O sinal da PA foi gravado em um computador numa frequência de 500Hz e, em seguida, analisado no programa Windaq, para posterior fornecimento e análise das pressões sistólica, diastólica e média.



Figura 6. Medida da pressão arterial batimento a batimento

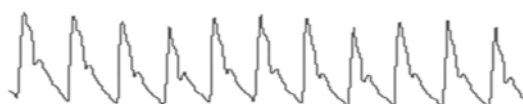


Figura 7. Registro de sinal da PA

3.3.2.6 Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial

Para a análise da variabilidade da FC foi utilizado o software Kubios HRV Analysis Standard, versão 3.0.1 (Department of Physics, University of Kuopio, Kuopio, FINLAND) e para variabilidade da PAS o software MATLAB R2017a versão 9.2 (MathWorks Inc., Natick, MA, USA). O trecho de registro de maior estabilidade dos intervalos RR foi selecionado para a devida aplicação do modelo auto-regressivo. Os componentes da potência espectral foram então obtidos para as bandas de baixa (BF, 0,04 a 0,15 Hz) e alta (AF, 0,15 a 0,4 Hz) frequências, tanto em unidades absolutas (ms^2/Hz) como em unidades normalizadas (un). As bandas de frequência em unidades

normalizadas foram calculadas a partir da divisão do componente absoluto de uma dada frequência, ou seja, BF ou AF em ms^2/Hz , pela potência total menos o componente de muito baixa frequência (menor que 0,04 Hz) e, finalmente, multiplicando essa razão por 100. Além disso, o balanço simpato-vagal cardíaco foi avaliado por meio da razão BF/AF. Os espectros das séries temporais do sistograma foram avaliados considerando os componentes de BF da variabilidade da PAS tanto em unidades absolutas (mmHg^2) como em unidades normalizadas (un), relativa à modulação simpática no vaso⁸¹.

3.3.2.7 Avaliação da sensibilidade barorreflexa arterial cardíaca

A sensibilidade barorreflexa cardíaca foi estudada pela técnica de infusão de drogas vasoativas. Inicialmente uma veia braquial foi puncionada com catéter de infusão venosa e mantida com solução glicosada a 5%. A PA e a FC foram gravadas durante a ativação e desativação dos barorreceptores arteriais ao longo da infusão endovenosa de doses crescentes de fenilefrina e nitroprussiato de sódio. Inicialmente foi registrado um período basal de 3 minutos, seguido da infusão de fenilefrina em doses crescentes de 25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{min}$, com o intuito de ativar os pressoreceptores. Após um período de 15 minutos ou até que a FC e a PA retornassem aos níveis basais, foi infundido nitroprussiato de sódio, em doses crescentes de 25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{min}$, para desativar os barorreceptores. A infusão de ambas as drogas foi mantida por 3 minutos em cada dose⁸²⁻⁸⁵ (**Figura 8**).

Durante a infusão de fenilefrina, foi permitido que a FC dos indivíduos caísse até 40 bpm, como resposta ao aumento da PA. Caso este valor fosse atingido, a infusão de fenilefrina era interrompida. Este procedimento foi adotado visando a segurança dos participantes, de forma a evitar que eles tivessem bradicardia severa, em resposta à droga administrada.

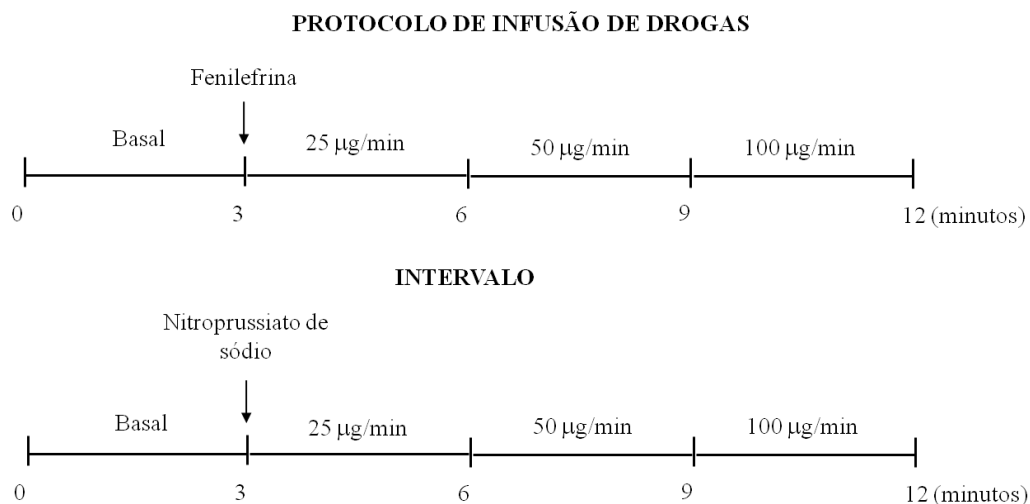


Figura 8. Protocolo de avaliação da sensibilidade barorreflexa cardíaca

A sensibilidade barorreflexa cardíaca foi avaliada pela análise de regressão linear, utilizando o delta absoluto da resposta da FC em relação ao delta absoluto da mudança da PAS. Uma vez feita a análise para cada indivíduo, originou-se a equação “ $ax + b$ ”, onde “ a ” representa a inclinação da reta (slope) ou a sensibilidade barorreflexa, e “ b ” representa o intercepto (momento em que a reta cruza o eixo y) ou o ponto de funcionamento da função barorreflexa (**Figura 9 e Figura 10**).

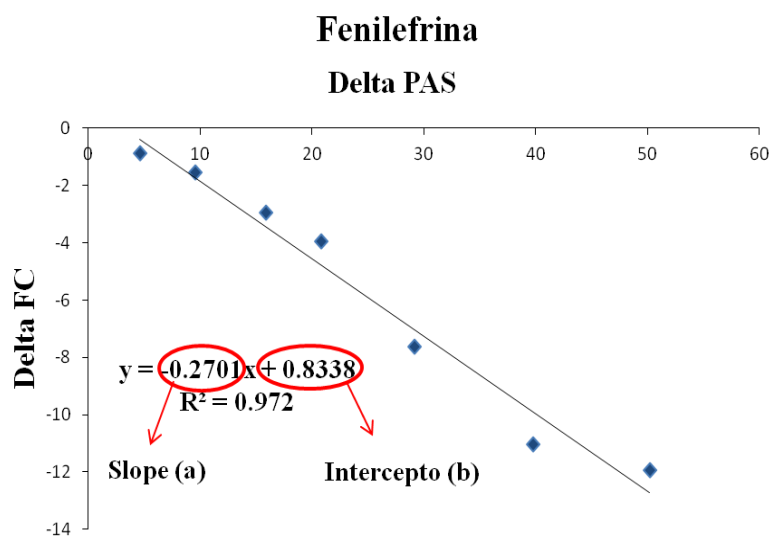


Figura 9. Análise de regressão linear (resposta à infusão de fenilefrina)

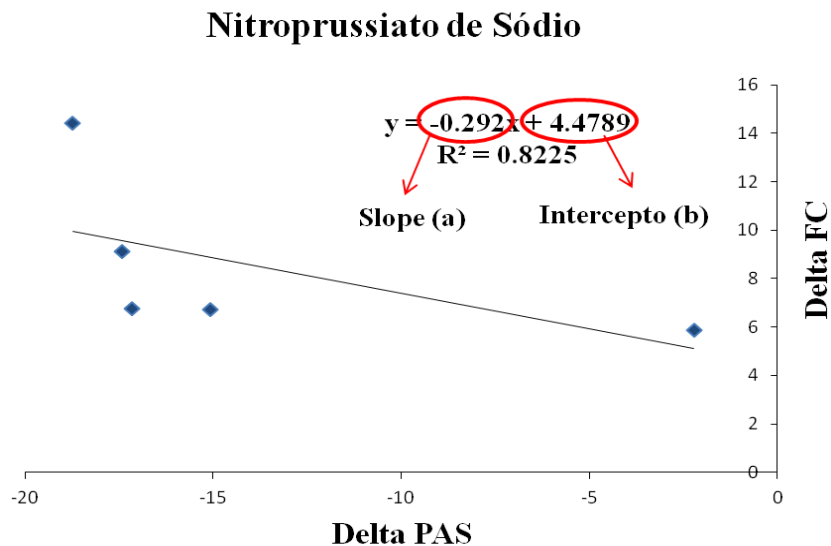


Figura 10. Análise de regressão linear (resposta à infusão de nitroprussiano de sódio)

3.3.2.8 Avaliação do fluxo sanguíneo muscular (pletismografia de oclusão venosa)

O fluxo sanguíneo muscular foi avaliado pela técnica de pletismografia de oclusão venosa⁸⁰. O paciente foi posicionado em decúbito dorsal com a perna elevada acima do coração. Um tubo silástico preenchido com mercúrio ligado a um transdutor de baixa pressão foi colocado em volta da panturrilha e conectado ao pletismógrafo (Hokanson 201 AG). Manguitos de esfigmomanômetro foram colocados em volta do tornozelo e na parte superior da coxa esquerda (Figura 11). Durante o exame, o manguito do tornozelo foi insuflado acima da pressão arterial sistólica (~240 mmHg). Com intervalos de 15 segundos, o manguito superior da coxa foi insuflado acima da pressão venosa por 7 a 8 segundos. O fluxo sanguíneo na panturrilha foi registrado durante todos os experimentos e expresso em mL/min/100mL. A condutância vascular na panturrilha foi calculada pela razão entre o fluxo sanguíneo na panturrilha e a PAM; o resultado, multiplicado por 100, foi expresso em “unidades”^{79,80}.

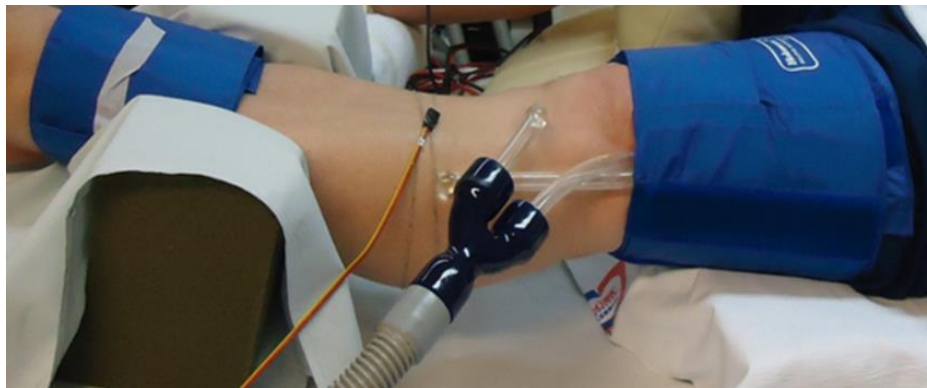


Figura 11. Pletismografia de oclusão venosa

3.3.2.9 Avaliação da capacidade funcional (ergoespirometria)

Os indivíduos realizaram um teste cardiopulmonar em esforço (SensorMedics – Vmax Analyzer Assembly, Encore 29S), em cicloergômetro (Ergoline – Via Sprint 150 P), seguindo protocolo de rampa com aumento constante de carga e velocidade de 60 a 70 rotações por minuto até a exaustão, com incrementos de 7,5 a 15 W/min, dependendo da carga máxima predita para cada paciente⁸⁶. Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado utilizando eletrocardiógrafo (Micromed – Cardio PC 13), com as doze derivações simultâneas. A FC foi registrada em repouso com o indivíduo posicionado no cicloergômetro, ao final de cada minuto do teste de esforço e no 1^o, 2^o, 4^o e 6^o minuto do período de recuperação. A PA foi medida sempre pelo mesmo avaliador, em repouso, nos 30 segundos finais a cada dois estágios do exercício e no 1^o, 2^o, 4^o e 6^o minuto do período de recuperação. A capacidade funcional máxima foi determinada pelo consumo de oxigênio de pico (VO_2 pico), avaliado na intensidade máxima de exercício. O limiar anaeróbico foi determinado no minuto em que o indivíduo apresentou o menor valor de equivalente ventilatório de O_2 (VE/VO_2) e pressão parcial de oxigênio no final da expiração ($PetO_2$), antes que estes parâmetros iniciem um aumento progressivo, e incremento não linear do valor de razão de troca respiratória (RER)⁸⁴. O ponto de compensação respiratória foi determinado no minuto em

que o indivíduo apresentou o menor valor de equivalente ventilatório de CO₂ (VE/VCO₂), antes que este parâmetro iniciasse um aumento progressivo, e o valor máximo de pressão parcial de CO₂ no final da expiração (PetCO₂), antes de iniciar uma queda progressiva nesta resposta⁸⁷.

3.3.2.10 Biópsia muscular

A biópsia foi feita no músculo vasto-lateral, aproximadamente no ponto médio entre a borda superior da patela e o trocânter, ou na área de maior secção transversal do músculo. Após assepsia com álcool a 70% e povidine, foi feita anestesia local com xilocaína 1%. Em seguida, foi feita uma pequena incisão na pele e subcutâneo de mais ou menos meio centímetro de comprimento e 1 cm de profundidade. Neste momento, o sangramento local foi estancado por compressão. Através da incisão foi introduzida uma agulha de Allendale (Bergstron modificada) até uma profundidade suficiente para ultrapassar a fáscia e penetrar no músculo. Por meio de uma pressão negativa, feita por uma seringa acoplada à agulha, retirou-se um pequeno fragmento do músculo vasto-lateral que pode variar de 100 a 200mg. Após a retirada da agulha, fez-se compressão local por mais ou menos cinco minutos para estancar o sangramento. Em seguida, foram dados pontos falsos com micropore no local da incisão. Por último, a coxa foi enfaixada com gaze estéril e atadura aplicando-se compressão moderada, o que foi mantido por um período de seis a oito horas. O fragmento de músculo obtido no procedimento foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e posteriormente armazenado em freezer -80°C para futura análise. O procedimento realizado nos pacientes que realizaram treinamento físico e nos pacientes que permaneceram apenas em seguimento clínico foi no mesmo membro inferior, como mostra os procedimentos no músculo vasto-lateral (**Figura 12**).

Todas as avaliações foram realizadas em dois momentos: 1) no início do estudo

e 2) após 16 semanas de treinamento físico e seguimento clínico, ou apenas seguimento clínico. As avaliações foram realizadas na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração.

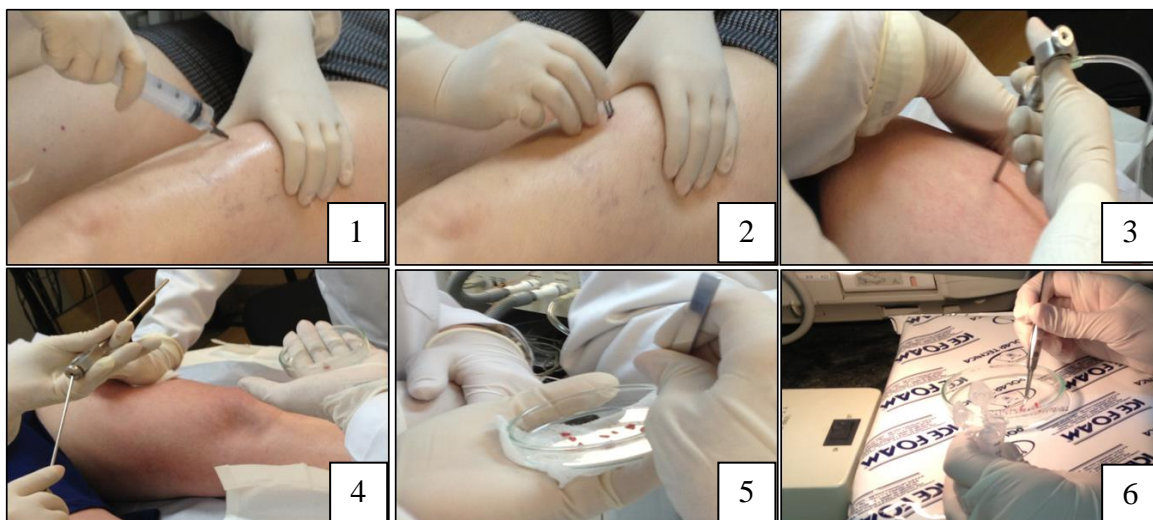


Figura 12. Procedimento da biópsia do músculo vasto-lateral (anestesia¹, incisão², corte³, retirada do fragmento muscular de dentro da agulha^{4,5} e dissecação do tecido muscular para armazenamento em eppendorf⁶, para imediato congelamento em nitrogênio líquido e posterior armazenamento em freezer -80°C

3.3.2.10.1 Histologia do Músculo Vasto-Lateral

3.3.2.10.1.1 Imunofluorescência para os tipos de fibras.

Os fragmentos dos músculos foram congelados por 10 segundos em isopentano previamente refrigerado, e rapidamente imersos em nitrogênio líquido. Os músculos foram seccionados transversalmente na espessura 10 µm de em criostato (Leica CM1850, Leica Microsystems, Alemanha). As secções dos músculos foram submetidas ao protocolo de imunofluorescência para MHCI (*Myosin Heavy Chain I*; Abcam, ab11083, EUA – marcação para fibras do tipo I), Laminina (Abcam, ab7784, EUA – delimitação das fibras) e Hoechst (Life Technologies, H3569, Brasil – marcação para mionúcleos). Essas marcações propõem analisar a distribuição e área de secção transversa das fibras do tipo I e II.

As secções dos músculos foram fixadas com formalina (Sigma-Aldrich, HT501128, Brasil) 10% por 10 minutos em temperatura ambiente, permeabilizadas em 0,2% de Triton X-100 (Bio-rad, 01-0407, EUA) e 1% albumina sérica bovina (BSA; Amresco, E588, EUA) diluídos em PBS (Phosphate Buffer Saline; Tampão Fosfato Salino; Sigma-Aldrich, P4417, Brasil) por 10 minutos. O bloqueio foi feito em 10% goat serum (Sigma-Aldrich, G9023, Brasil) em PBS por 45 minutos. As lâminas foram incubadas com solução contendo os anticorpos primários contra 1) MHCI (diluição 1:6000) para a diferenciação da fibra muscular do tipo I; e 2) Laminina (diluição 1:100) para a marcação das demais fibra musculares, negativas para tipo I, ou seja, fibras do tipo II; com 1,5% de goat serum em PBS por 1h e 30 minutos em temperatura ambiente. Após a lavagem com 0,2% de Triton X-100 em PBS (3 vezes de 10 minutos cada), os cortes foram incubados por 40 minutos em sala escura com uma solução PBS contendo 1,5% de goat sérum, os respectivos anticorpos secundários fluorescentes para MHCI (diluição 1:500; Alexa Fluor 568 goat anti-mouse, Life Technologies, A11004, EUA) e Laminina (diluição 1:500; Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit, Life Technologies, A11008, EUA) e Hoechst (diluição 1:1000, para visualização dos núcleos). Após 30 minutos de lavagem em 0,2% de Triton X-100 em PBS as lâminas foram cobertas com lamínulas utilizando-se glicerol tamponado (60% Glicerol, 40% Tris-HCl 0.1M pH 9.3). As imagens foram capturadas em computador acoplado a um microscópio fluorescente e conectado a um sistema fotográfico (magnificação de 200x) (Leica Qwin, Leica Microsystems, Alemanha). O critério de escolha do campo para contagem foi a integridade das fibras. A área de secção transversa de cada fibra e os tipos de fibra muscular (tipo I e II) foram analisada pelo programa ImageJ 1.46r.

3.3.2.10.1.2 Histoquímica para succinato desidrogenase.

Essa avaliação permite avaliar a coloração com succinato desidrogenase (SDH) é uma avaliação indireta do metabolismo oxidativo nos diferentes tipos de fibras. Semelhante a metodologia de imunofluorescência descrita acima, após congelamento dos fragmentos musculares, os músculos foram seccionados transversalmente na espessura 10 µm de em criostato. Após 5 minutos em temperatura ambiente, os cortes foram imersos durante 30 minutos a 37°C em solução de incubação (pH 7,6) contendo fosfato de sódio 6,5 mM de fosfato de sódio monobásico, 43,5 mM de fosfato sódico bifásico, 0,6 mM de *Nitroblue tetrazolium* e 50 mM de Succinato de sódio. Os cortes foram enxaguados em solução salina fisiológica para uma maior desidratação em 15% de etanol⁸⁸.

3.3.2.10.1.3 Produtos da oxidação da dihidroetidina.

A dihidroetidina (DHE) é uma molécula não fluorescente que ao ser oxidada por espécies reativas de oxigênio produz produtos que se intercalam no DNA e emitem fluorescência. A fluorescência total (observada em microscópio de fluorescência) derivada da oxidação da DHE permite a análise da produção total de espécies reativas de oxigênio em tecidos. Para análise de fluorescência total, secções do músculo vasto-lateral (10µm) foram incubadas com DHE (10µM) a 37°C por 30 min. As imagens foram obtidas em um microscópio fluorescente e conectado a um sistema fotográfico (magnificação de 200x) (Leica Qwin, Leica Microsystems, Alemanha).

3.3.2.10.2 Avaliação da expressão gênica

3.3.2.10.2.1 Extração do ácido ribonucleico (RNA)

Para extração do RNA das amostras de tecido muscular, foram utilizados de 50-100 mg de tecido em 1,0 mL de *TRIzol® Reagent (Invitrogen™)*. O material foi triturado

no *TRIzol*[®] *Reagent*, até sua completa homogeneização, e mantido em temperatura ambiente (TA) por 5 minutos, sendo dado seguimento ao protocolo descrito na bula do reagente. Após adicionar 0,2 mL de clorofórmio e agitar vigorosamente com as mãos, durante 15 segundos, a amostra foi colocada em incubação de 3 minutos em TA. Essa mistura foi centrifugada a 4 °C, a uma velocidade de 12.000 x g, durante 15 minutos. A parte aquosa foi removida e transferida para outro tubo limpo e estéril. Acrescentou-se 0,5 mL de álcool isopropanol e foi mantida em incubação em TA por 10 minutos. Em seguida, centrifugou-se a 12.000 x g, por 10 minutos, a uma temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi removido e descartado, ficando apenas o precipitado, para ser lavado com 1 mL de álcool etílico, agitando o tubo no vortex e centrifugando por 5 minutos, a uma velocidade de 7.500 x g a 4 °C. O sobrenadante foi, então, descartado deixando secar o precipitado formado no fundo do tubo, sendo em seguida eluído com 30-50 µL de água tratada com pirocarbonato de dietila (DEPC). As concentrações das amostras foram determinadas por meio da leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 260/280 nm, utilizando-se o aparelho *nanodrop* (*Thermo Scientific*). A qualidade das mesmas foi verificada por meio de corrida de eletroforese em gel de agarose. Uma alíquota com 3 µg de RNA de cada amostra foi separada, para a realização do tratamento e transcrição reversa e o restante das amostras foi armazenado em *freezer* -80°C.

3.3.2.10.2 Tratamento do RNA total com a enzima *DNase free*

O RNA foi submetido ao tratamento com a enzima *Turbo DNA-Free*[™] da empresa *Ambion* (*The RNA Company*). O protocolo do fabricante foi seguido rigorosamente, utilizando-se a quantidade de 1 µg de RNA. Ao RNA, foram adicionados 1,2 µL de *Turbo DNase Buffer* 10X e 1,0 µL de *Turbo DNase*. As amostras foram, então, homogeneizadas vigorosamente e incubadas a 37 °C, durante 30 minutos, no equipamento

Thermomixer Comfort (marca *Eppendorf*). Ao final da incubação, foi adicionado 1,2 µL do reagente de inativação da *DNase*, seguido de incubação por 5 minutos, em TA (25°C), também no *Thermomixer Comfort* (marca *Eppendorf*). Após o término da incubação, seguiu-se a centrifugação da amostra a 10.000 x g por 1,5 minuto e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo livre de *RNase*.

3.3.2.10.2.3 Transcrição reversa (síntese de DNA complementar (cDNA))

Para transcrição reversa, foi utilizada a enzima *SuperScript™ II Reverse Transcriptase* (*Invitrogen™*). Foram utilizadas duas misturas: **Mix 1** contendo 10 µL de RNA tratado (3,0 µg); 0,5 µL de Oligo-(dT)12-18 *Primer* (*Invitrogen™*) (0,5 µg/µL); 0,5 µL de *random primers* (*Invitrogen™*) (3,0 µg/µL) e 1,0 µL de dNTP (*Invitrogen™*) (10 mM); e **Mix 2** contendo 4,0 µL de tampão da enzima (5X); 2,0 µL de DTT (0,1 M); 1,0 µL de *RNase Out™* (*Recombinant Ribonuclease Inhibitor-Invitrogen™*) 1,0 µL de *SuperScript II*.

O Mix 1 (12 µL de volume) foi levado ao termociclador, à temperatura de 65 °C, por 5 minutos. O programa foi pausado e, então, o Mix 2 (8,0 µL por amostra) foi acrescentado. O programa foi continuado com as seguintes ciclagens: 42 °C por 2 minutos, 42 °C por 50 minutos, 70 °C por 15 minutos e mantido a 4 °C por tempo indeterminado, até ser retirado da máquina. Os cDNAs foram posteriormente armazenados, à temperatura de -20 °C.

3.3.2.10.2.4 Reação de qRT-PCR

As reações de PCR em tempo real (qRT-PCR) foram feitas em placas de 96 poços, usando reagente *Power SYBR Green Master Mix* (*Applied Biosystems – EUA*), conforme descrito pelo fabricante e o equipamento utilizado foi o *Step One Plus Real-Time PCR Systems* (*Applied Biosystems*).

A reação foi preparada com 10,0 μL de *Sybr Green*; 5,0 μL de cDNA diluído 1:20 e 5,0 μL de *primer* (*forward* e *reverse*) já diluídos na concentração determinada previamente, na reação de otimização dos *primers*, necessária para uma eficiência de 100%. Essas quantidades foram utilizadas para elaboração da reação de qRT-PCR em duplicata. O programa para a amplificação das amostras consiste em uma denaturação inicial de 95 °C por 10 minutos, seguidos de 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos (denaturação) e 60 °C por 1 minuto (anelamento dos *primers* e extensão).

No final de todas as reações, as curvas de dissociação com temperaturas crescentes foram analisadas, a fim de verificar a amplificação de um único produto. As condições da reação foram idênticas às utilizadas para a construção das curvas de calibração e otimização dos *primers*. As amostras foram estudadas em duplicata e, para cada gene do estudo, foram amplificadas em paralelo as amostras controle cDNA. Todas as reações de PCR, consideradas para análise, apresentaram eficiência igual ou superior a 95%.

A expressão dos genes escolhidos para este estudo foi normalizada em relação ao RNA mensageiro do gene endógeno, ciclofilina. Os *primers* utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Primers

	<i>Primer</i>	Sequências de oligonucleotídeos
Atrogin-1	Forward	CCGGCTGCTGTGGAAGAACTCTGC
	Reverse	CTTCTTCCAATCCAGCTGCCCTTTGTC
MuRF-1	Forward	TGAGAGGCCCCCAGATGCAGAGAGAC
	Reverse	AGCAGAGAGAAGACATCACCTCCCCATTG
Ciclofilina	Forward	ACCCCACCGTGTTCTTCGACATTGC
	Reverse	TTCTGCTGTCTTTGGGACCTTGTCTGC

3.4 Sequência Experimental

Para a realização de todos os exames da pesquisa, os participantes compareceram à Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração em 4 visitas, conforme descrito abaixo:

1ª visita: Os pacientes portadores de cardiopatia chagásica e função ventricular sistólica preservada, selecionados durante as consultas no ambulatório da Unidade Clínica de Miocardiopatias do Incor, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, eram convidados para uma avaliação mais detalhada, confirmação dos critérios de inclusão e exclusão, e para receberem informações sobre os

procedimentos da pesquisa. Após concordarem, assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido. Neste dia, as seguintes avaliações eram realizadas na sequência: novo eletrocardiograma e novo ecocardiograma (realizados no Serviço de eletrocardiografia e no Serviço de ecocardiografia, do Incor).

2ª visita: Os participantes chegavam às 7 horas da manhã na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício para a realização dos seguintes protocolos experimentais objetivando avaliação do controle autonômico:

- Avaliação da FC, PA, FSM e ANSM, em repouso: neste experimento, os participantes deitavam na maca, em decúbito dorsal e em seguida eram colocados os eletrodos para registro da FC e também o manguito no dedo médio, para aquisição da PA a cada batimento cardíaco (*Finometer*). Na sequência, o nervo fibular era localizado, por meio de estimulação externa e, em seguida, colocado um microeletrodo no nervo fibular para captação da ANSM. Após a localização do nervo, iniciava-se o registro da FC, PA e ANSM, durante 15 minutos de repouso. O fluxo sanguíneo muscular da perna era avaliado, também em repouso, durante três minutos.

- Avaliação da sensibilidade barorreflexa cardíaca: após o registro do período de repouso, a veia braquial era puncionada e era iniciado o protocolo de infusão das drogas vasoativas, conforme descrito anteriormente, com registro da FC e PA.

3ª visita: Uma semana após, os participantes compareciam à Unidade de Reabilitação às 8 horas da manhã, para realização do teste ergoespirométrico.

4ª visita: Uma semana após a realização do teste ergoespirométrico, os participantes compareciam à Unidade de Reabilitação às 10 horas da manhã, para realização da biópsia muscular.

Após a realização de todas as avaliações, os pacientes foram randomizados para um dos dois grupos: grupo de pacientes com cardiopatia chagásica e função ventricular

sistólica preservada submetidos ao treinamento físico aeróbico além do seguimento clínico (ChT) ou grupo de pacientes com cardiopatia chagásica e função ventricular sistólica preservada não submetidos a treinamento físico aeróbico, submetidos apenas ao seguimento clínico (ChNT). Após 4 meses de realização do treinamento físico aeróbico além do seguimento clínico ou apenas seguimento clínico, os pacientes repetiam todas as avaliações realizadas inicialmente (**Figura 13**).

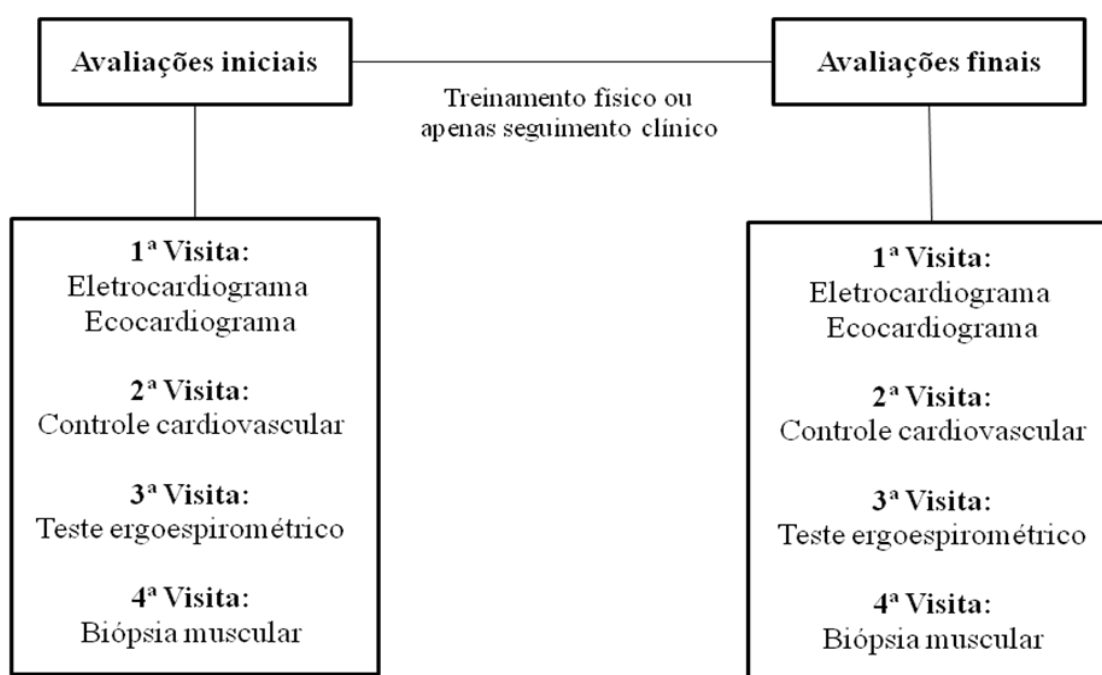


Figura 13. Fluxograma das visitas e avaliações realizadas no início e ao término do protocolo

3.5 Análise estatística

Foram testadas a normalidade (teste Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (teste de Levene) para todas as variáveis, em cada grupo, no período pré e pós-intervenção. Para as variáveis com distribuição normal e homogeneidade foram utilizados testes paramétricos. Neste caso, as possíveis diferenças nas características basais entre os

grupos ChT e ChNT foram testadas pelo teste *t* de Student para dados não pareados. O teste *t* de Student para dados pareados foi utilizado para testar as alterações entre as áreas de secção transversa das fibras musculares no período pós-intervenção em relação ao período pré-intervenção nos pacientes do grupo ChT. As possíveis alterações no período pós-intervenção em relação ao período pré-intervenção, nos grupos ChT e ChNT, foram testadas por análise de variância de dois fatores (ANOVA) para medidas repetidas. Em caso de diferença significativa foi utilizada a comparação pelo *Post-hoc* de *Tukey*. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal e/ou homogeneidade foram utilizados testes não paramétricos. Para estas variáveis, as diferenças entre os grupos ChT e ChNT, tanto no período pré-intervenção, quanto no período pós-intervenção, foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney. As possíveis alterações entre o período pré e pós-intervenção, em cada grupo, foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon. Para avaliar as diferenças nas proporções de gênero e medicamentos, entre os grupos ChT e ChNT, foi utilizado o teste Qui-quadrado (X^2). A correlação de Pearson foi utilizada para testar associação entre o delta (diferença entre valores do período pós em relação ao período pré-intervenção) da ANSM e os deltas do FSM, sensibilidade barorreflexa cardíaca para aumento da PA, sensibilidade barorreflexa cardíaca para queda da PA, índice de modulação simpática vasomotora, atividade simpática cardíaca, expressão gênica de atrogin-1 e MuRF-1. Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão. Em todas as análises foi aceito como diferença significativa $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Características pré-intervenção

As características físicas, clínicas e função cardíaca pré-intervenção dos grupos ChT e ChNT estão apresentadas na **Tabela 2**. Os grupos eram semelhantes em relação à idade, IMC, gênero, medicamentos, alterações eletrocardiográficas e função cardíaca. Os parâmetros ecocardiográficos estão, além de semelhantes entre os grupos, dentro dos padrões de normalidade.

Os grupos também eram semelhantes quanto aos parâmetros hemodinâmicos. Isto é, não foram observadas diferenças significativas com relação a FC, PAS, PAD e PAM entre os grupos (**Tabela 2**). Também foi observada semelhança com relação à ANSM, à sensibilidade barorreflexa cardíaca (representada pelo a-slope) tanto para aumento quanto para queda da PAS, ao fluxo sanguíneo muscular da perna e à condutância vascular da perna entre os grupos (**Tabela 2**). A análise do VO₂ pico indica que os pacientes de ambos os grupos apresentavam capacidade funcional semelhante (**Tabela 3**).

Tabela 2. Características físicas, clínicas e função cardíaca dos grupos do período pré-intervenção

	ChT	ChNT	
	(n=8)	(n=10)	<i>p</i>
Idade (anos)	47,8±2,4	51,0±1,9	0,34
IMC (Kg/m²)	26,5±1,0	26,3±1,4	0,92
Gênero (n, %)			
Feminino	3 (37%)	5 (50%)	0,73
Masculino	5 (63%)	5 (50%)	0,76
Medicamentos (n, %)			
Amiodarona	1 (12%)	0	0,27
Alterações eletrocardiográficas (n, %)			
BRD	6 (75%)	8 (80%)	0,92
BDAS	3 (37%)	1 (10%)	0,27
BAV1	2 (25%)	0	0,15
Alterações de repolarização	0	2 (20%)	0,23
Função cardíaca			
FEVE (%)	59,8±1,0	59,6±1,3	0,92
Volume diastólico final (mL)	110,6±9,6	93,2±11,1	0,40
Volume sistólico final (mL)	44,5±4,5	42,5±2,9	0,80

ChT = grupo chagas - treinado; ChNT = grupo chagas não treinado; IMC=Índice de Massa Corpórea; BRD=Bloqueio de ramo direito; BDAS=Bloqueio divisional antero-superior; BAV1=Bloqueio átrio ventricular de 1º grau; FEVE=Fração de ejeção do ventrículo esquerdo; mL = mililitros. Valores apresentados em média±erro padrão

Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos e neurovasculares e capacidade funcional no período pré-intervenção

	ChT	ChNT	
	(n=8)	(n=10)	<i>p</i>
FC (bpm)	66,1±2,6	61,9±1,7	0,20
PAS (mmHg)	125,0±2,7	123,8±5,0	0,85
PAD (mmHg)	74,3±1,7	70,8±2,1	0,24
PAM (mmHg)	94,6±2,0	92,0±2,9	0,53
ANSM (disp/min)	31,9±3,8	31,5±3,2	0,95
Slope (a) - Fenilefrina	-0,23±0,1	-0,25±0,0	0,77
Slope (a) – Nitroprussiato de sódio	-0,48±0,1	-0,54±0,1	0,67
FSM (ml/min/100ml-tec)	1,4±0,1	1,5±0,1	0,50
CVP (U)	1,5±0,1	1,6±0,1	0,35
VO₂ pico (ml/kg/min)	24,3±2,4	25,2±1,8	0,78

ChT = grupo chagas - treinado; ChNT = grupo chagas não treinado; FC=Freqüência Cardíaca; PAS=Pressão Arterial Sistólica; PAD=Pressão Arterial Diastólica; PAM=Pressão Arterial Média; ANSM= Atividade Nervosa Simpática Muscular; FSM=Fluxo Sanguíneo Muscular; CVP=Condutância Vascular da Perna; VO₂ pico= Consumo de Oxigênio Pico. Valores apresentados

4.2 Efeito do treinamento físico aeróbico na modulação autonômica cardiovascular

O treinamento físico aeróbico não alterou a função cardíaca nem os parâmetros hemodinâmicos (**Tabela 4**), exceto pela FC que reduziu após o treinamento físico

($p=0,003$), como esperado. Não houve alteração destes parâmetros no grupo ChNT. A função cardíaca não apresentou alteração em ambos os grupos.

Tabela 4. Função cardíaca e parâmetros hemodinâmicos nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico

	ChT		ChNT	
	(n=8)		(n=10)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Função cardíaca				
FEVE (%)	59,8±1,0	60,1±0,6	59,6±1,3	61,8±1,2
Volume diastólico (mL)	110,6±9,6	108,4±3,2	93,2±11,1	100,6±3,7
Volume sistólico (mL)	44,5±4,5	43,4±1,8	42,5±2,9	38,1±1,2
Parâmetros hemodinâmicos				
FC (bpm)	66,1±2,6	59,4±3,3*	61,8±1,7	61,9±1,5
PAS (mmHg)	125,0±2,7	116,2±5,0	123,8±5,0	124,4±5,0
PAD (mmHg)	74,3±1,7	67,4±2,9	70,7±2,0	70,7±2,6
PAM (mmHg)	94,6±2,0	86,7±3,6	91,9±3,1	93,2±4,0

ChT = grupo chagas - treinado; ChNT = grupo chagas não treinado; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; mL = mililitros; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ChT pré ($p \leq 0,05$)

Outro marcador de treinamento físico aeróbico, além da redução da FC, foi o aumento do VO_2 pico ($p = 0,03$) (**Figura 14**). Adicionalmente, quando foi realizada a comparação entre grupos, o VO_2 pico foi significativamente maior no grupo ChT em relação ao grupo ChNT ($p = 0,04$).

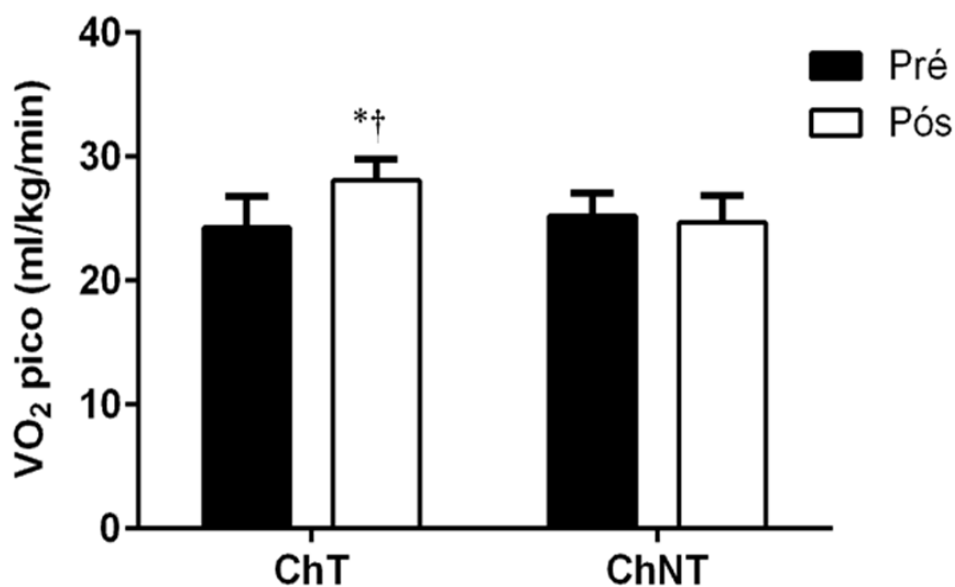


Figura 14. Capacidade funcional (VO_2 pico) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). *vs. ChT pré ($p \leq 0,05$). †vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

O treinamento físico aeróbico reduziu significativamente os níveis da ANSM em repouso ($p = 0,008$), enquanto que nos pacientes que não treinaram não houve alteração deste parâmetro (**Figura 15**). Após os quatro meses de acompanhamento, a comparação entre os grupos mostrou que a ANSM foi significativamente menor no grupo ChT em relação ao grupo ChNT ($p = 0,002$).

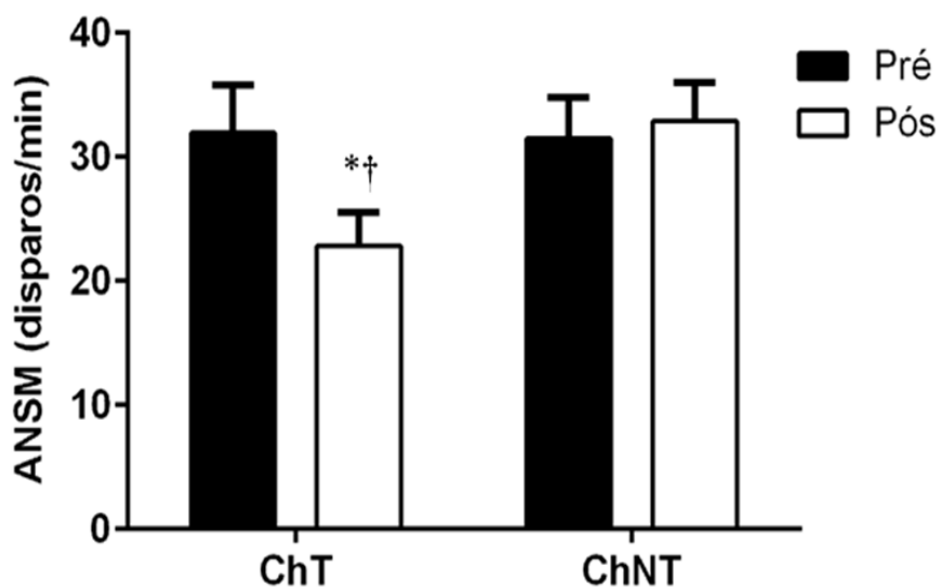


Figura 15. Atividade nervosa simpática muscular (ANSM) em repouso em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). *vs. ChT pré ($p \leq 0,05$). †vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

Na **Tabela 5** estão apresentados os índices do controle autonômico cardiovascular. O treinamento físico aeróbico reduziu a atividade simpática cardíaca ($p = 0,004$) e o balanço simpato-vagal cardíaco ($p = 0,004$), e aumentou a atividade parassimpática cardíaca ($p = 0,027$). Não houve alteração destes parâmetros no grupo ChNT. Após os quatro meses de acompanhamento, a comparação entre os grupos mostrou que a atividade simpática cardíaca foi significativamente menor no grupo ChT em relação ao grupo ChNT ($p = 0,02$) e a atividade parassimpática cardíaca foi significativamente maior ($p = 0,02$).

O treinamento físico aeróbico também reduziu o índice de modulação autonômica simpática vasomotora conforme pode ser observado com a redução do componente de baixa frequência da variabilidade da PAS em unidades normalizadas ($p = 0,04$) relativo à modulação simpática vasomotora (**Tabela 5**). Não houve alteração desta variável no grupo ChNT. Semelhantemente, após o período de acompanhamento, a comparação entre

os grupos mostrou que o índice de modulação autonômica simpática vasomotora foi significativamente menor no grupo ChT em relação ao grupo ChNT ($p = 0,02$).

Tabela 5. Variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico

	ChT		ChNT	
	(n=8)		(n=10)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Variabilidade da frequência cardíaca				
BF (un)	68±4	60±4*†	64±2	66±2
AF (un)	32±4	40±4*†	36±2	34±2
BF/AF	2,4±0,5	1,6±0,2*	2,0±0,2	2,1±0,2
Variabilidade da pressão arterial sistólica				
BF (mmHg ²)	7,0±1,6	6,0±1,5	6,5±1,6	6,7±1,2
BF (un)	46±5	37±3*†	45±3	48±2

ChT = grupo chagas - treinado; ChNT = grupo chagas não treinado; BF = baixa frequência; AF = alta frequência. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ChT pré ($p \leq 0,05$). † vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

Com relação à sensibilidade barorreflexa cardíaca (representada pelo a-slope), o treinamento físico aeróbico aumentou significativamente o a-slope, tanto para aumento da PAS ($p = 0,02$) quanto para queda da PAS ($p = 0,02$), enquanto que nos pacientes que não treinaram não houve alteração deste parâmetro. Após os quatro meses de acompanhamento, a comparação entre os grupos mostrou que o slope foi significativamente maior no grupo ChT em relação ao grupo ChNT tanto para aumento

da PAS ($p = 0,04$) quanto para queda da PAS ($p = 0,03$). Entretanto, com relação ao intercepto não houve alteração em nenhum dos grupos (**Tabela 6**).

Tabela 6. Sensibilidade barorreflexa cardíaca nos períodos pré e pós-treinamento físico aeróbico ou seguimento clínico

	ChT		ChNT	
	(n=8)		(n=10)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Fenilefrina				
Slope (a)	-0,23±0,1	-0,46±0,1*†	-0,25±0,0	-0,24±0,1
Intercepto (b)	-1,3±1,1	0,32±1,4	0,15±0,6	0,27±0,8
Nitroprussiato de sódio				
Slope (a)	-0,48±0,1	-1,00±0,3*†	-0,54±0,1	-0,52±0,1
Intercepto (b)	-1,28±2,2	-0,20±2,2	-0,51±0,7	-0,66±0,9

ChT = grupo chagas - treinado; ChNT = grupo chagas não treinado. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ChT pré ($p \leq 0,05$). † vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

A seguir, os gráficos de regressão linear para a sensibilidade barorreflexa cardíaca, durante aumento e queda da PAS, nos momentos pré e pós-treinamento físico aeróbico e seguimento clínico (**Figura 16**) e nos momentos pré e pós apenas seguimento clínico (**Figura 17**).

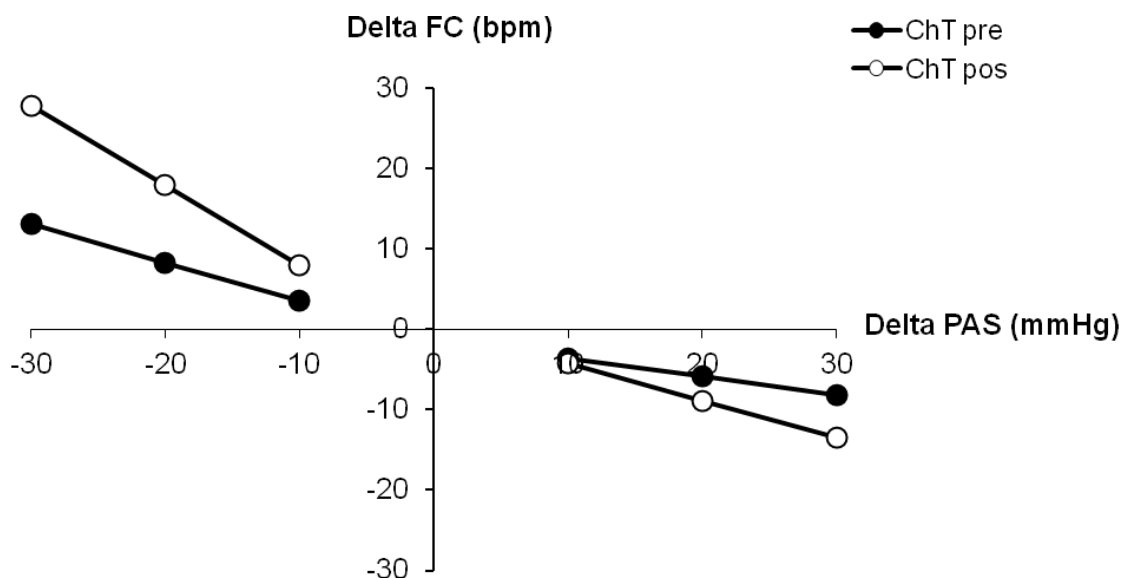


Figura 16. Gráfico de regressão linear para sensibilidade barorreflexa cardíaca do grupo ChT, durante aumento e queda da PAS. FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica

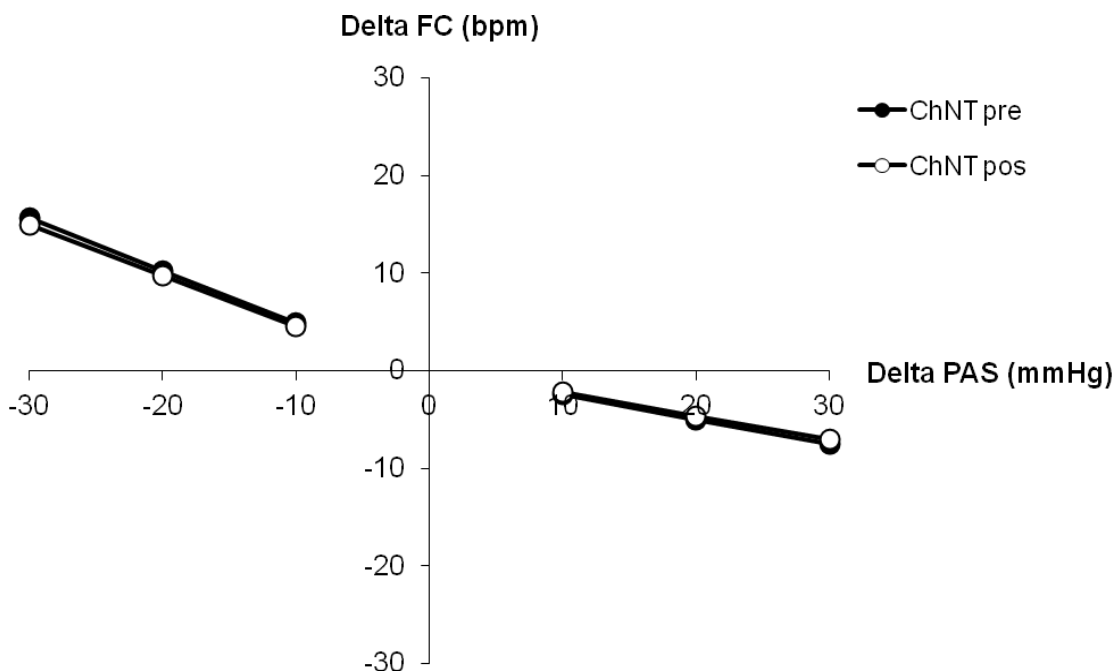


Figura 17. Gráfico de regressão linear para sensibilidade barorreflexa cardíaca do grupo ChNT, durante aumento e queda da PAS. FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica

O treinamento físico aeróbico aumentou significativamente o fluxo sanguíneo muscular da perna em repouso ($p = 0,004$) (**Figura 18**) e a condutância vascular da perna

($p = 0,003$) (**Figura 19**). Não houve alteração destas variáveis no grupo ChNT. Ambas as variáveis foram maiores no grupo ChT, na comparação entre grupos, após os quatro meses de acompanhamento ($p = 0,003$ e $p = 0,004$, respectivamente). Adicionalmente, houve correlação entre o aumento do FSM com a redução da ANSM ($r = -0,61$; $p = 0,025$).

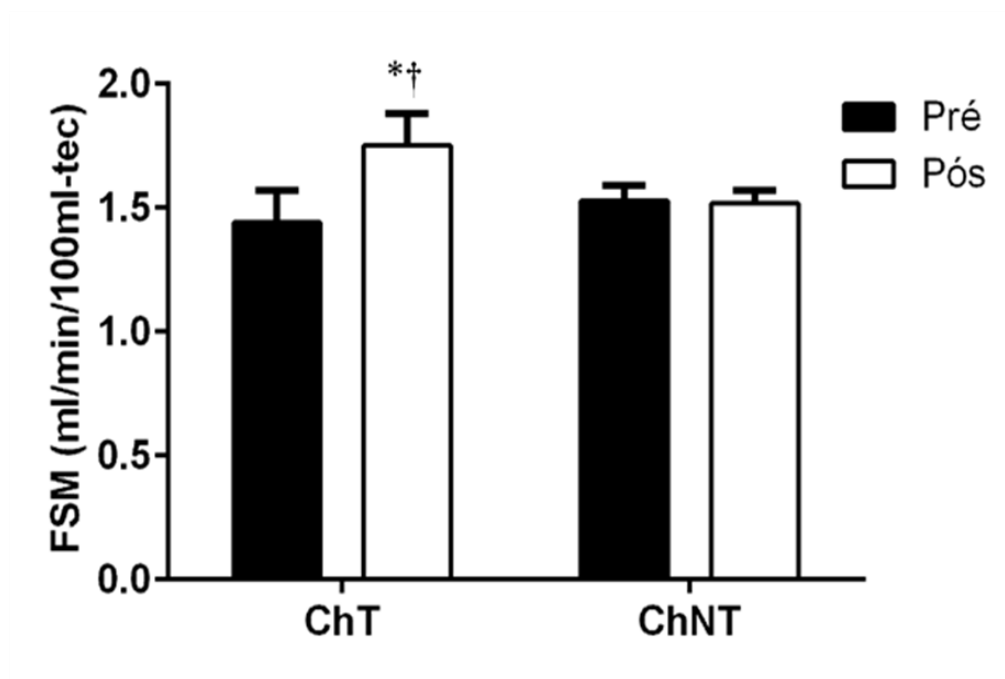


Figura 18. Fluxo sanguíneo muscular da perna em repouso (FSM) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). *vs. ChT pré ($p \leq 0,05$). †vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

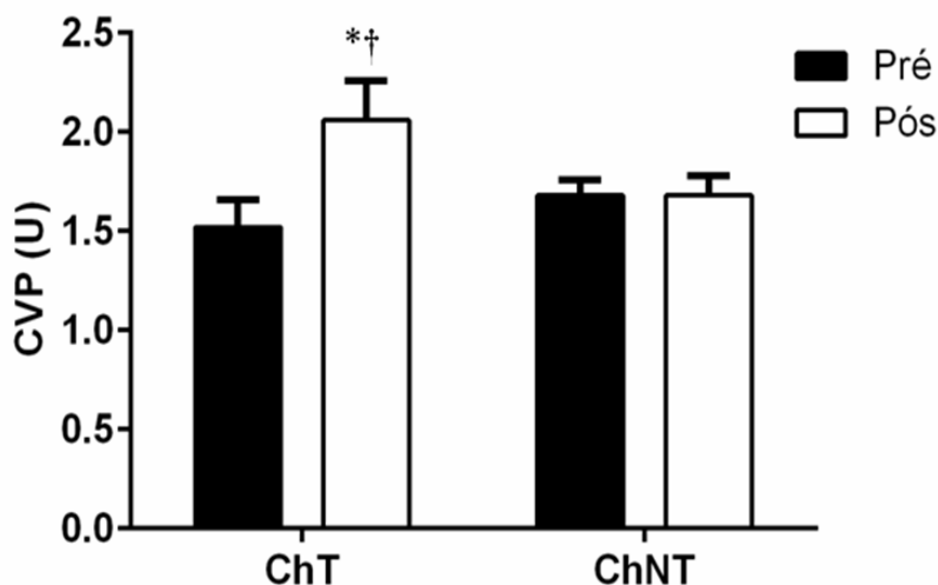


Figura 19. Condutância vascular da perna em repouso (CVP) em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). **vs.* ChT pré ($p \leq 0,05$). †*vs.* ChNT pós ($p \leq 0,05$)

4.3 Associações entre as alterações da ANSM e as alterações na sensibilidade barorreflexa cardíaca, atividade simpática vasomotora e atividade simpática cardíaca

Análises adicionais mostraram correlação negativa entre as alterações da ANSM em repouso ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) e as alterações na sensibilidade barorreflexa cardíaca tanto para aumento ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) quanto para queda da PA ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$). Estas análises também mostraram correlação positiva entre as alterações da ANSM em repouso ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) e as alterações no índice de modulação simpática vasomotora ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) e na atividade simpática cardíaca ($\Delta = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$), conforme a **Tabela 7**.

Tabela 7. Regressão linear bivariada

	Δ ANSM	
	R	P
Δ Sensibilidade barorreflexa para aumento da PAS (a-slope)	-0,72	0,020
Δ Sensibilidade barorreflexa para queda da PAS (a-slope)	-0,82	0,001
Δ Índice de modulação simpática vasomotora (BF, un)	0,81	0,003
Δ Atividade simpática cardíaca (BF, un)	0,67	0,013

ANSM= atividade nervosa simpática muscular; PAS= pressão arterial sistólica; BF = baixa frequência; AF = alta frequência; un=unidades normalizadas.

4.4 Efeito do treinamento físico aeróbico no tecido muscular esquelético

4.4.1 Efeito do treinamento físico aeróbico na área de secção transversa e na distribuição dos tipos das fibras musculares

Com relação à avaliação do tecido muscular esquelético, inicialmente foram apresentados os resultados das análises histológicas das fibras musculares. Devido a priorização do tecido muscular para as análises de expressão gênica, não foi obtido material suficiente para realização das análises histológicas em todos os pacientes, sendo

apresentados os resultados de três pacientes do grupo ChT. Portanto, não foi possível realização da análise estatística para comparações entre os grupos ChT e ChNT. No entanto, foi possível comparar as alterações entre as áreas de secção transversa das fibras musculares no período pós-intervenção em relação ao período pré-intervenção nos pacientes do grupo ChT. Foi possível observar que após 4 meses de treinamento físico aeróbico, os pacientes apresentaram aumento na área de secção transversa das fibras tipo I (oxidativa) quando comparados a condição Pré intervenção ($4.238,21 \pm 205,13$ vs $5.830,97 \pm 158,01 \mu\text{m}^2$; $p=0,008$) (**Figura 20**), o que não ocorreu na área de secção transversa das fibras tipo II (glicolítica) após o período de treinamento físico ($3.878,39 \pm 269,19$ vs $4.593,11,25 \pm 111,25 \mu\text{m}^2$; $p=0,390$) (**Figura 21**). Com relação à distribuição (porcentagem) dos tipos de fibras musculares, houve um aumento na proporção de fibras oxidativas (42 vs 48%) vs e glicolíticas (58 vs 52%), no grupo ChT na condição Pós intervenção quando comparada a condição Pré (**Figura 22**).

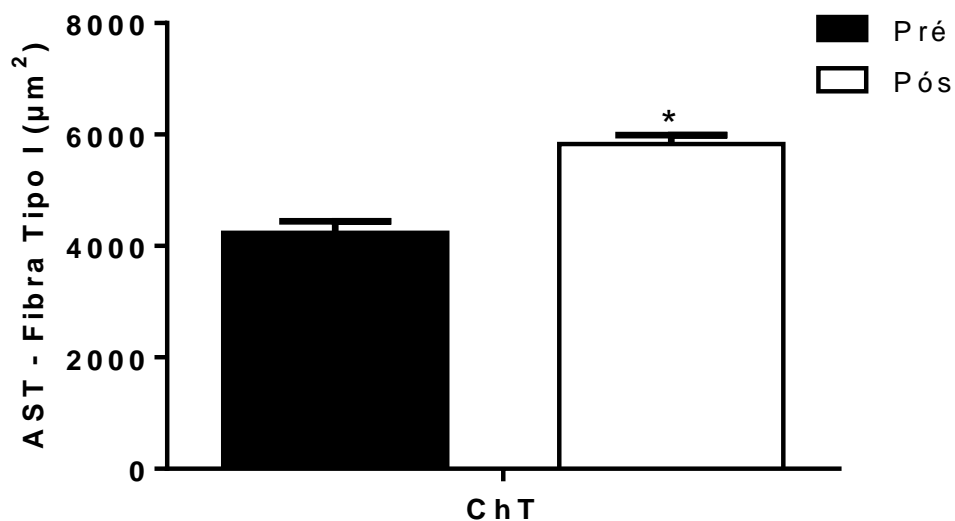


Figura 20. Efeito do treinamento físico aeróbico pré e pós nas AST - Fibras tipo I. ChT (n=3)

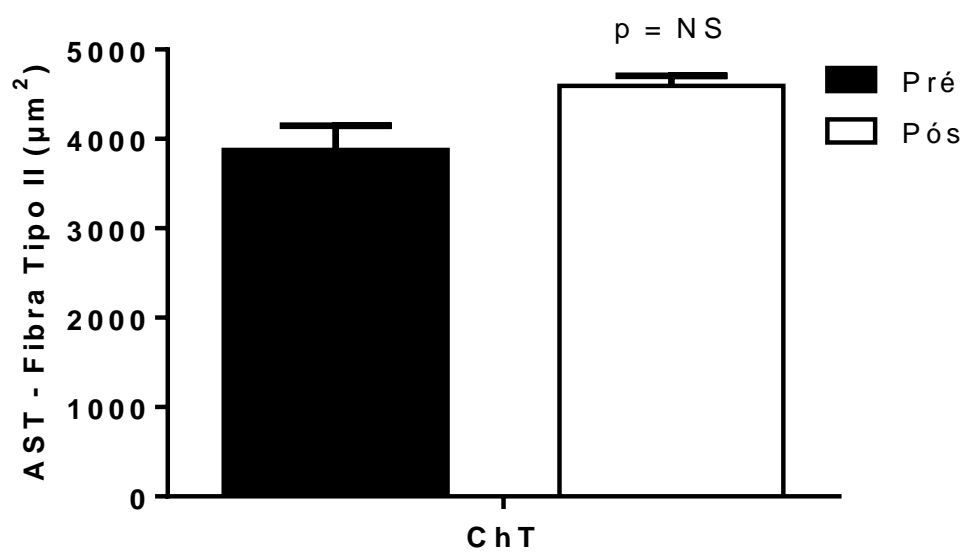


Figura 21. Efeito do treinamento físico aeróbico pré e pós nas AST - Fibras tipo II. ChT (n=3)

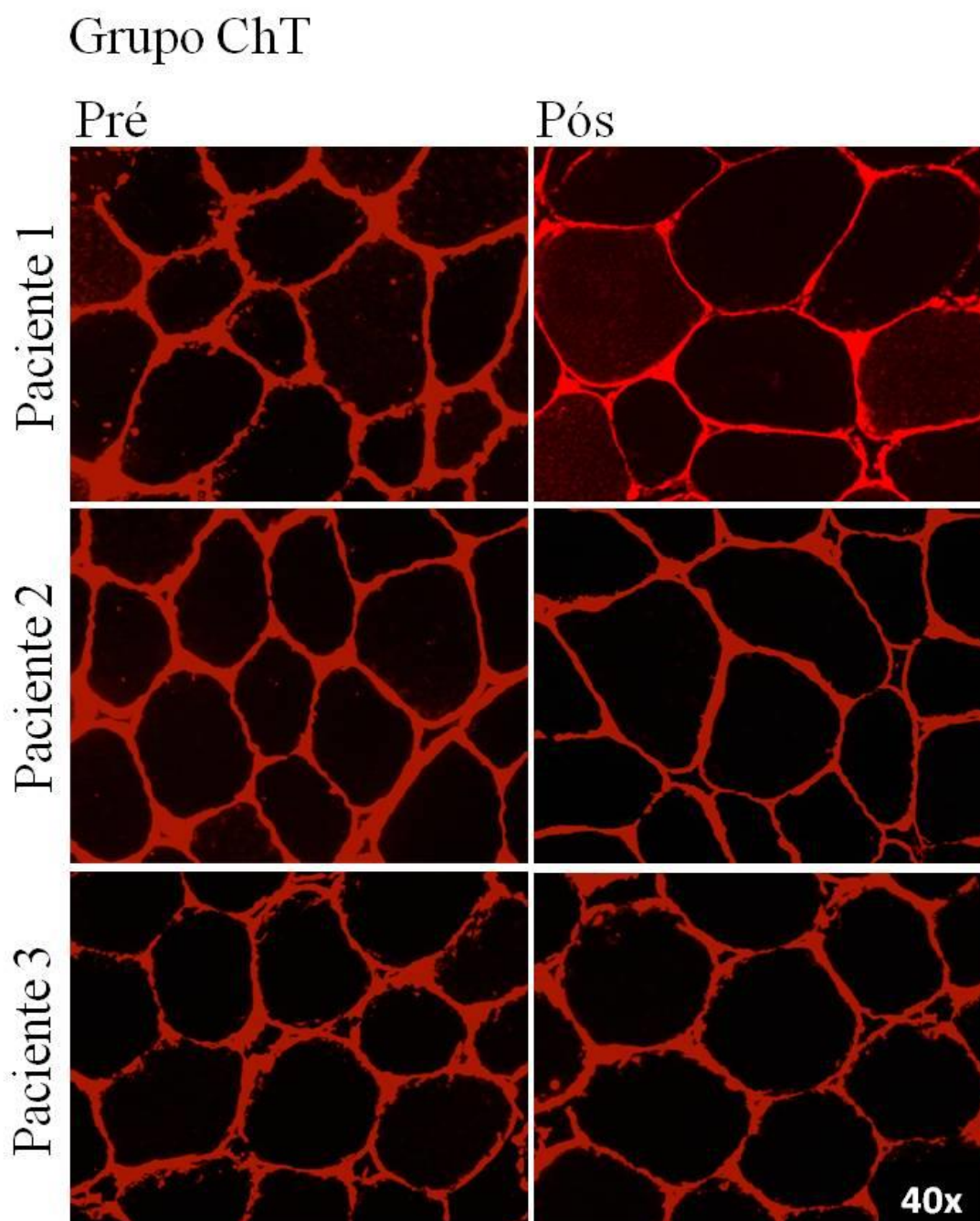


Figura 22. Imunofluorescência pré e pós-treinamento físico aeróbico da área de secção transversa e tipos de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT). Fibras de cor preta = fibras tipo I (oxidativas) e fibras de cor vermelha = fibras tipo II (glicolíticas)

4.4.2 Efeito do treinamento físico aeróbico no metabolismo oxidativo das fibras musculares

Corroborando com o aumento da distribuição das fibras tipo I (oxidativas), foi observado aumento na coloração para SDH, o que indiretamente indica para o aumento no metabolismo oxidativo das fibras musculares após o treinamento físico aeróbico nos três pacientes avaliados-o que pode ser visualmente observado (**Figura 23**).

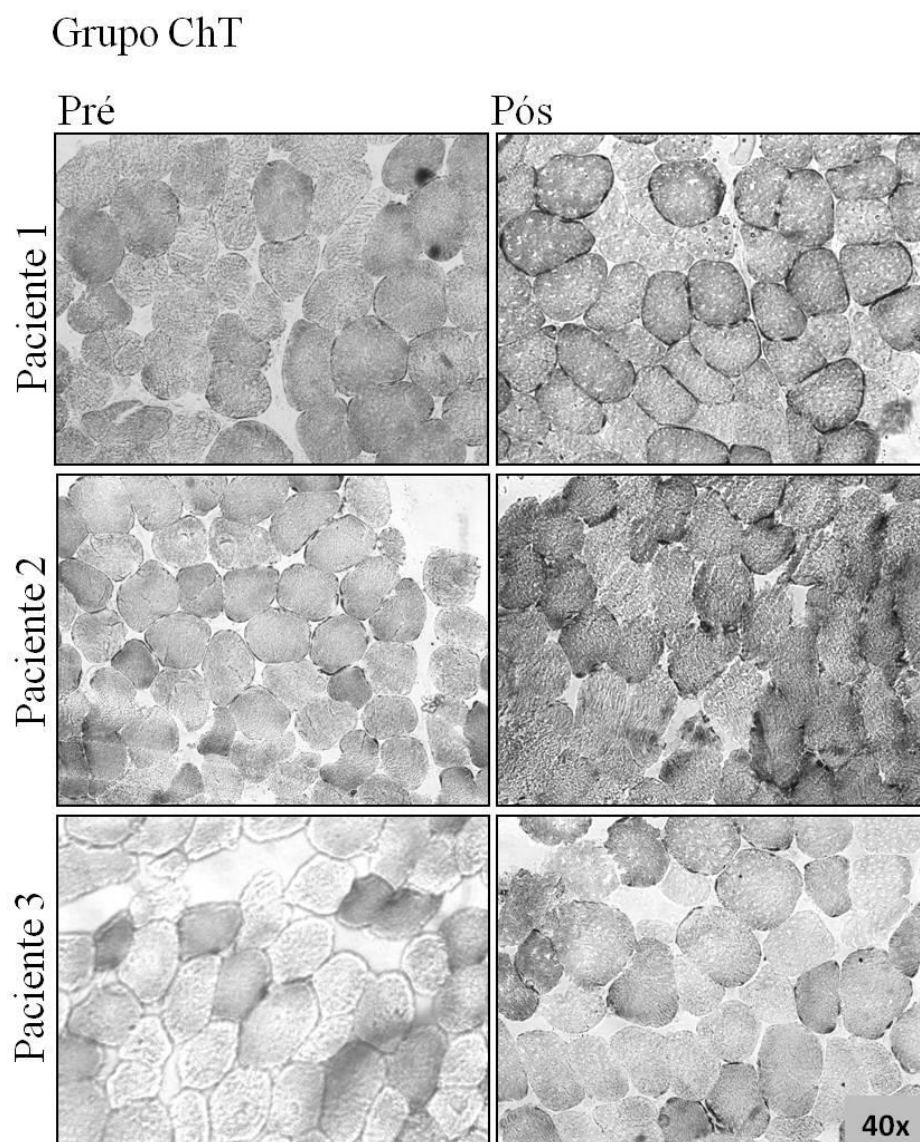


Figura 23. Imunohistoquímica pré e pós-treinamento físico aeróbico para a enzima succinato desidrogenase de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT)

4.4.3 Efeito do treinamento físico aeróbico no estresse oxidativo das fibras musculares

O treinamento físico aeróbico diminuiu visualmente a intensidade da fluorescência dos produtos da oxidação da dihidroetidina (**Figura 24**), indiretamente sugerindo que o treinamento físico possa reduziu a produção total de espécies reativas de oxigênio produzidas pelo músculo vasto-lateral nos três pacientes avaliados.

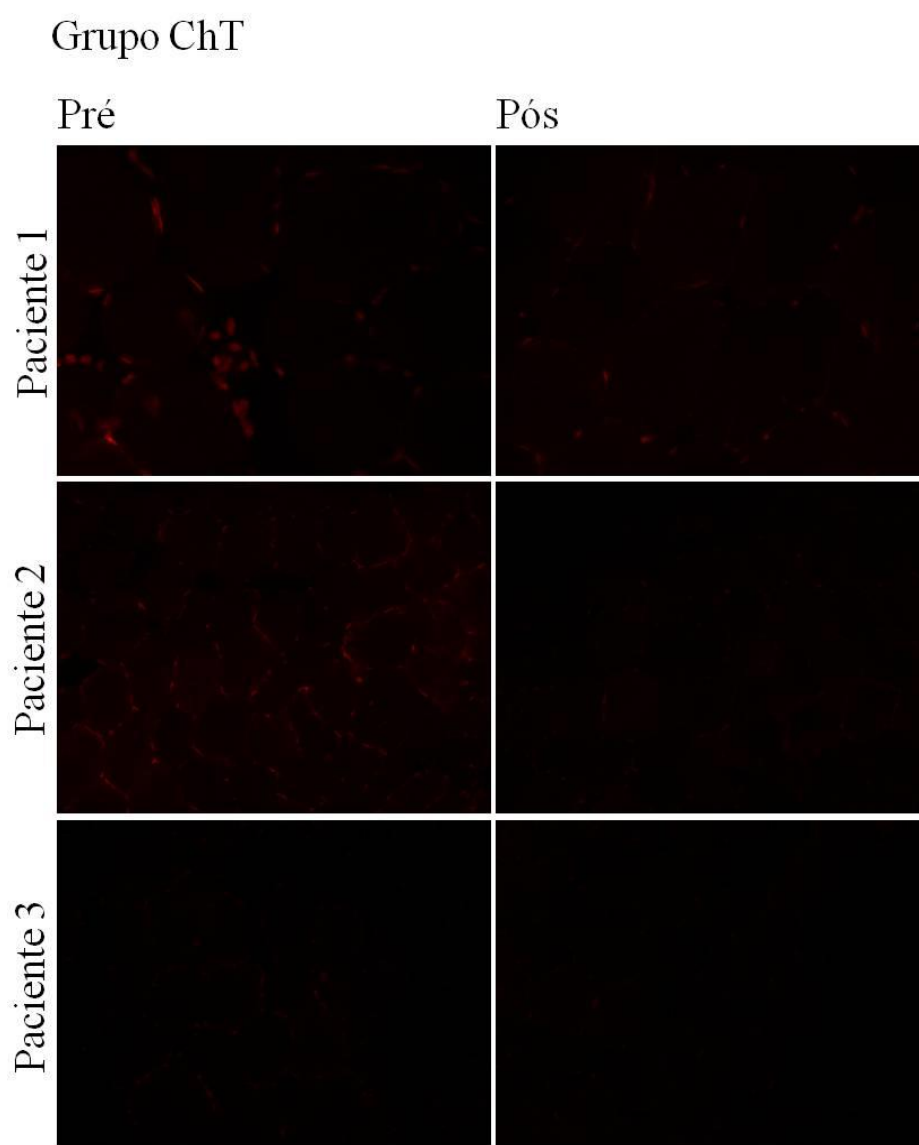


Figura 24. Produtos da oxidação da dihidroetidina pré e pós-treinamento físico aeróbico de fibras musculares do músculo vasto-lateral (perna esquerda) em três pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT)

4.4.4 Efeito do treinamento físico aeróbico na expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1 na musculatura esquelética

Após o período de quatro meses, o grupo ChT apresentou menor expressão gênica de Atrogin-1 em relação ao grupo ChNT ($p = 0,001$), quando foi realizada a comparação entre os grupos. Entretanto, não houve alteração da expressão gênica de Atrogin-1 nos grupos ChT e ChNT (**Figura 25**). Com relação a expressão gênica de MuRF-1, não houve alteração desta variável em nenhum dos dois grupos ($p = 0,44$) (**Figura 26**).

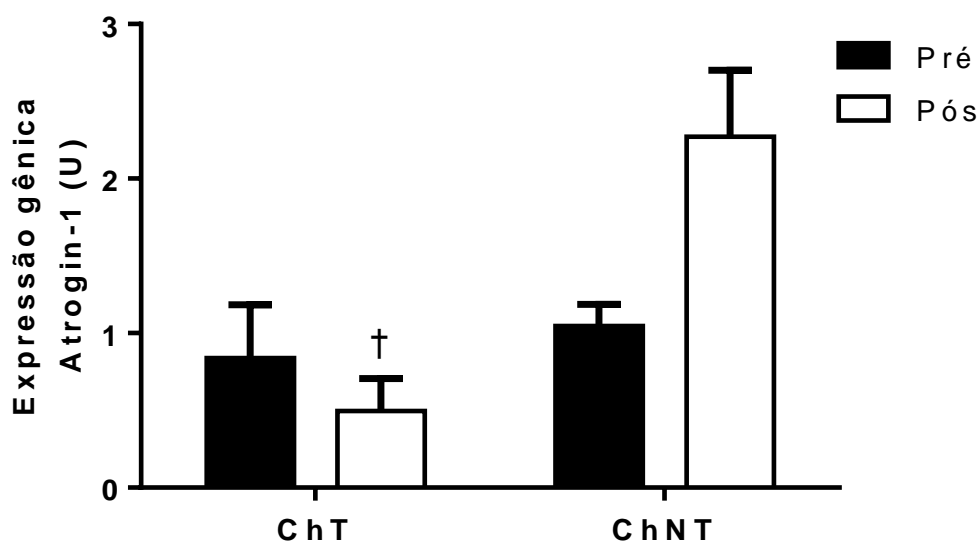


Figura 25. Expressão gênica de Atrogin-1 em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). †vs. ChNT pós ($p \leq 0,05$)

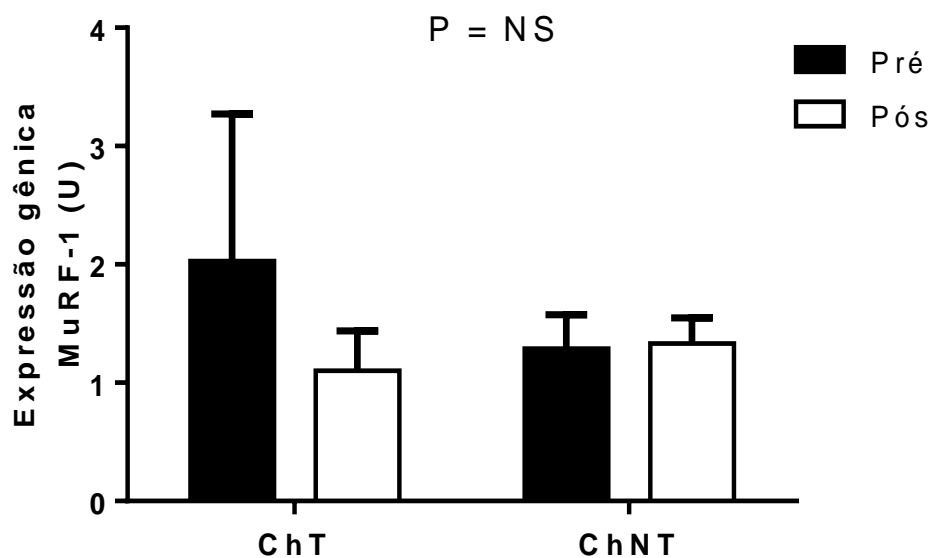


Figura 26. Expressão gênica de MuRF-1 em pacientes submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChT) e não submetidos ao treinamento físico aeróbico (ChNT). NS=não significativo

4.5 Associação entre as alterações na ANSM e na expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1 no músculo esquelético

Análises adicionais mostraram correlação positiva entre as alterações da ANSM em repouso (Δ = pós – pré-intervenção) e as alterações da expressão gênica de Atrogin-1 (Δ = pós – pré-intervenção) e da expressão gênica de MuRF-1 (Δ = pós – pré-intervenção), conforme apresentado na **Tabela 8**.

Tabela 8. Regressão linear bivariada

			Δ ANSM	
			R	P
Δ Expressão	gênica	de	0,86	0,02
Atrogin-1 (U)				
Δ Expressão	gênica de MuRF-1		0,64	0,06
(U)				

ANSM= atividade nervosa simpática muscular; U=unidades

4.6 Sumário dos resultados

Desta forma, para melhor compreensão dos resultados obtidos neste estudo, os principais achados foram sumarizados (**Tabela 9**).

Tabela 9. Comparação dos resultados entre dois grupos ChT e ChNT

	Treinamento físico aeróbico e seguimento clínico	Seguimento clínico
ANSM	↓	➡
Atividade simpática cardíaca	↓	➡
Atividade parassimpática cardíaca	↑	➡
Balanço simpato-vagal cardíaco	↓	➡
Modulação simpática vasomotora	↓	➡
Sensibilidade barorreflexa cardíaca (aumento da PAS)	↑	➡
Sensibilidade barorreflexa cardíaca (queda da PAS)	↑	➡
FSM	↑	➡
CVP	↑	➡
VO ₂ pico	↑	➡
FC repouso	↓	➡
Função cardíaca	➡	➡
Expressão gênica Atrogin-1	➡	➡
Expressão gênica MuRF-1	➡	➡

ANSM= Atividade Nervosa Simpática Muscular; FSM=Fluxo Sanguíneo Muscular; CVP=Condutância Vascular da Perna; VO₂ pico= Consumo de Oxigênio Pico; FC=Freqüência Cardíaca

↑ = aumento ↓ = diminuição ➡ = semelhante

5 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo foram que o treinamento físico aeróbico em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada: 1) diminui a hiperatividade simpática, colaborando para o aumento da CVP e do FSM; 2) melhora a sensibilidade barorreflexa cardíaca; e 3) a redução da ANSM proporcionada pelo treinamento físico aeróbico esteve associada à redução da hiperatividade cardiovascular, a melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca e a redução da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1. Estes resultados são inéditos pelo fato de demonstrarem pela primeira vez o efeito do treinamento físico aeróbico em pacientes nesta fase da Doença de Chagas, que pode se tornar uma estratégia de tratamento para estes pacientes porque rotineiramente recebem intervenção exclusivamente sintomática, sendo apenas seguidos clinicamente.

O treinamento físico aeróbico é considerado uma intervenção terapêutica não farmacológica fundamental no tratamento de cardiopatias com disfunção ventricular, sendo um de seus principais efeitos a redução da hiperatividade simpática⁵³⁻⁵⁹. Os mecanismos exatos desta redução ainda não são totalmente conhecidos, mas é possível que estejam relacionados à melhora de reflexos autonômicos induzidos pelo treinamento físico⁵⁸, como o aumento da sensibilidade barorreflexa simpática, conforme observado em estudo com pacientes com cardiopatia com insuficiência cardíaca de etiologia chagásica e outras etiologias⁶⁰. Os resultados desta tese mostram pela primeira vez que, em pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica ainda preservada, o treinamento físico aeróbico apresenta os mesmos efeitos benéficos na redução da hiperatividade simpática muscular simpática e cardíaca. A melhora da sensibilidade

barorreflexa cardíaca excitou menos a atividade simpática (independente do sítio de inervação), favorecendo melhor controle da pressão arterial. Também foi observado aumento da sensibilidade barorreflexa cardíaca nestes pacientes. Estas adaptações não foram observadas nos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada que não foram submetidos ao treinamento físico aeróbico.

Os mecanismos envolvidos na melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca após treinamento físico aeróbico em pacientes com cardiopatia com disfunção ventricular não estão totalmente esclarecidos. Um dos fatores que poderia explicar, pelo menos em parte, seria a melhora da sensibilidade do nervo depressor aórtico. O treinamento físico aeróbico melhorou a sensibilidade do nervo depressor aórtico de ratos com insuficiência cardíaca⁸⁹. Outro fator importante a ser considerado seria o aumento da complacência arterial. Sabe-se que o treinamento físico aeróbico melhora a complacência arterial^{90,91} e partindo do conceito mecano-elástico, sugere-se que o aumento da complacência arterial, no local de inserção dos receptores aferentes, possa permitir que uma mesma pressão pulsátil seja capaz de provocar maior ativação barorreflexa. É conhecido que a distensibilidade aórtica está preservada em pacientes com cardiopatia chagásica sem disfunção ventricular⁹². Outro fator que fornece suporte para explicar, pelo menos em parte, a melhora da atividade da sensibilidade barorreflexa cardíaca, após o treinamento físico aeróbico, seriam as alterações nos componentes centrais e eferentes dessa via. Estudos mostram que o bloqueio intracerebroventricular do receptor de angiotensina II melhorou a sensibilidade baroreflexa da atividade nervosa simpática renal de ratos com insuficiência cardíaca⁹³ e que a Angiotensina II estaria envolvida tanto no deslocamento da faixa de funcionamento do pressorreceptor quanto na redução do ganho do controle barorreflexo⁹⁴. E que o treinamento físico aeróbico realizado em coelhos com insuficiência cardíaca foi eficiente na regularização da concentração de angiotensina II

plasmática e central e do receptor tipo 1 de RNA mensageiro de angiotensina II⁹⁵. Além disso, o treinamento físico aeróbico realizado no período de 3 a 4 semanas associado a infusão de angiotensina II aumentou a sensibilidade baroreflexa, o que foi associado com a redução de estresse oxidativo central apenas na condição de aumento de angiotensina II central⁹⁶. Explicações para o aumento da sensibilidade barorreflexa cardíaca com o treinamento físico aeróbico na cardiopatia chagásica com função sistólica preservada estiveram fora do escopo desta tese, porém sugerimos estas possibilidades para este fato.

A melhora de outros mecanismos reflexos autonômicos proporcionados pelo treinamento físico aeróbico poderia justificar a redução da hiperatividade simpática. É conhecido que pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada apresentam redução da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar²⁴ e do aumento da sensibilidade quimiorreflexa central e periférica²⁵. Recente estudo demonstrou que a diminuição da sensibilidade mecanorreflexa e o aumento da sensibilidade metaborreflexa muscular, podem explicar, pelo menos em parte, a diminuição da hiperatividade simpática em pacientes com insuficiência cardíaca submetidos a treinamento físico aeróbico⁹⁷. Estudos em animais sugerem que a redução da atividade nervosa simpática devido ao treinamento físico aeróbico está associada à melhora do reflexo cardiopulmonar⁹⁸ e à diminuição da hipersensibilidade do quimiorreflexo⁹⁹. Por estes motivos não se pode descartar as possibilidades de que a melhora do reflexo cardiopulmonar e do aumento da sensibilidade quimiorreflexa, que estão prejudicados na cardiopatia chagásica e função sistólica preservada, possam ter contribuído para redução da hiperatividade simpática nos pacientes da presente tese.

Outro ponto a ser ressaltado neste estudo é o fato que o treinamento físico aeróbico também melhorou o fluxo sanguíneo muscular da panturrilha em repouso. É conhecido que o treinamento físico aeróbico melhora o fluxo sanguíneo muscular, o que tem sido

atribuído à diminuição da atividade nervosa simpática de pacientes com cardiopatia com disfunção ventricular de diferentes etiologias incluindo a chagásica^{56,100} e à melhora da função endotelial¹⁰¹. Na presente tese, houve associação do aumento do FSM com a redução da ANSM ($r=-0,61$; $p=0,025$). Uma melhor perfusão no músculo esquelético aumenta a oferta de nutrientes, reduz os níveis de espécies reativas de oxigênio e citocinas pro-inflamatórias, e melhora o metabolismo e estrutura das fibras musculares de pacientes com insuficiência cardíaca¹⁰². Em conjunto, estas alterações resultam na melhora da capacidade funcional desses pacientes. Da mesma forma, foi observada melhora na capacidade funcional nos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada e, está bem estabelecido que o treinamento físico aeróbico melhora o consumo de oxigênio pico em pacientes com cardiopatia chagásica com e sem disfunção ventricular^{103,104} além da qualidade de vida de pacientes com cardiopatia chagásica com disfunção ventricular sem causar efeitos adversos¹⁰³.

Com relação a atividade simpática cardíaca, um estudo avaliou o efeito do treinamento físico aeróbico na variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com cardiopatia chagásica e disfunção ventricular e os autores observaram que o treinamento físico aeróbico não melhorou a variabilidade da frequência cardíaca destes pacientes¹⁰⁴, embora seja consenso que o treinamento físico aeróbico melhore a variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com insuficiência cardíaca, como mostrado em recente revisão sistemática¹⁰⁵. Não foram encontrados estudos que avaliassem o controle autonômico cardiovascular em pacientes com cardiopatia sem disfunção ventricular de outras etiologias. Interessante as associações observadas entre a redução da ANSM e a redução da atividade simpática cardíaca ($r=0,67$; $p=0,013$) e vasomotora ($r=0,81$; $p=0,003$), com o treinamento físico aeróbico nos pacientes com cardiopatia chagásica e

função sistólica preservada estudados nesta tese, pois são justificadas pelo fato de apresentarem mecanismos centrais comuns que regem a atividade rítmica simpática¹⁰⁶.

Não foi objetivo do presente estudo comparar os achados histológicos dos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada em relação a indivíduos saudáveis, mas foi importante aprofundar o conhecimento fisiopatológico musculoesquelético dos mesmos, para enfatizar-se a importância dos resultados histológicos observados após o período de treinamento físico aeróbico que semelhantemente aconteceram nos três pacientes histologicamente analisados. Além disso, não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito do treinamento físico aeróbico sobre a estrutura e metabolismo muscular em pacientes com a doença de Chagas, sendo que o presente estudo é pioneiro nesta intervenção, apresentando aumento na área de secção transversa das fibras tipo I (oxidativas) quando comparado à condição pré-treinamento físico aeróbico, além do aumento na proporção de fibras oxidativas e aumento no metabolismo oxidativo das fibras, indiretamente indicado pelo aumento na coloração para SDH. O aumento da capacidade oxidativa também pode ser considerado um marcador de eficiência do treinamento físico aeróbico.

É conhecido que, na musculatura esquelética periférica, o treinamento físico aeróbico resulta em aumento da concentração de enzimas oxidativas (citocromo c oxidase, citrato sintase, lactato desidrogenase), aumento na proporção de fibras tipo I e alterações estruturais na mitocôndria em pacientes portadores de miocardiopatia isquêmica e dilatada idiopática^{61,62}. Estas alterações têm papel importante no aumento da capacidade funcional e da qualidade de vida induzidas pelo treinamento físico aeróbico.

Em concordância com os resultados das análises histológicas do músculo vasto-lateral dos três pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada do presente estudo, o grupo ChT apresentou menor expressão gênica de Atrogin-1 em

relação ao grupo ChNT, após o período de quatro meses. Este dado é bastante interessante tendo em vista que Atrogin-1 é um gene envolvido no processo de atrofia muscular. É conhecido que a atrofia muscular inicia-se com a diminuição da tensão muscular, o que repercute tanto na redução da síntese quanto no aumento da degradação proteica¹⁰⁷.

A melhora do quadro de miopatia esquelética, que envolve as alterações estruturais e metabólicas proporcionadas pelo treinamento físico aeróbico, é de fundamental importância para estes pacientes, pois a progressão da miopatia esquelética, com a perda de massa muscular, pode culminar, em casos mais graves, em um processo de caquexia. A caquexia associada à insuficiência cardíaca é uma síndrome multifatorial definida por perda contínua de massa muscular esquelética, óssea e de gordura, de forma não intencional e por um período maior que seis meses¹⁰⁸. A caquexia é um forte fator de risco independente para mortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca¹⁰⁹, por isso a importância da intervenção com o treinamento físico aeróbico para tentar atenuar este processo de atrofia muscular.

Existem evidências do envolvimento do estresse oxidativo na ativação no processo de atrofia muscular, sendo um importante indutor deste processo, tanto no desuso quanto na caquexia muscular¹¹⁰⁻¹¹². Interessante observar que o treinamento físico aeróbico reduziu a intensidade da fluorescência dos produtos da oxidação da dihidroetidina (DHE) nos três pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada no presente estudo, indicando que possa ter reduzido o estresse oxidativo muscular dos mesmos, e desta forma ter contribuído para a redução do atrogin-1 no grupo ChT em relação ao grupo ChNT após os quatro meses de acompanhamento. Diante do conhecimento que o aumento da expressão deste gene pode deflagrar a atrofia muscular, este dado é extremamente relevante. Estudo mostrou que o treinamento físico aeróbico reduziu⁶³ a expressão gênica de atrogin-1 e MuRF-1 em camundongos com insuficiência

cardíaca, na qual a expressão destes genes está aumentada¹¹³. Em humanos, benefício semelhante do treinamento físico aeróbico ocorreu, com a redução da expressão gênica de MuRF-1, avaliada em músculo vasto-lateral em pacientes com insuficiência cardíaca⁶⁴.

Está bem estabelecido na literatura que a hiperativação do sistema nervoso simpático deflagra o quadro de miopatia esquelética, principalmente via aumento de estresse oxidativo e de citocinas pró-inflamatórias musculares e circulantes, que ativam as vias envolvidas no catabolismo muscular¹¹⁴⁻¹¹⁶. Na presença das alterações musculares envolvidas com o processo de atrofia muscular, a exacerbação do sistema nervoso simpático é potencializada, colaborando ainda mais para a progressão da insuficiência cardíaca, cuja presença da hiperativação simpática dentre outras alterações neuro-humorais podem culminar na caquexia cardíaca nos casos mais graves. Os dados de correlação entre a redução da ANSM após o treinamento físico e a redução da expressão gênica de atrogin-1 ($r = 0,86$, $p = 0,02$) e a tendência observada na correlação com a redução da expressão gênica de MuRF-1 ($r = 0,64$, $p = 0,06$) observadas nos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada corroboram estes estudos.

5.1 Implicações clínicas

A hiperatividade simpática, a redução da sensibilidade barorreflexa cardíaca e do fluxo sanguíneo muscular são preditores independentes de mortalidade e marcadores de mau prognóstico em pacientes com insuficiência cardíaca^{34,35}, forma da doença para a qual parte dos pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada vão evoluir. A melhora da função autonômica com a redução da hiperatividade simpática, melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca e do fluxo sanguíneo muscular, proporcionadas pelo treinamento físico aeróbico, possuem, portanto, importantes

implicações clínicas apresentando-se como uma excelente opção terapêutica para estes pacientes.

5.2 Limitações

Não havia quantidade de tecido muscular do vasto-lateral suficiente para as análises histológicas dos demais pacientes, nem para confirmação dos resultados encontrados na expressão gênica, com análises de expressão proteica. A ausência de um grupo controle saudável esteve fora do desenho do estudo pois o objetivo da tese foi avaliar o efeito do treinamento físico aeróbico numa fase específica da doença de Chagas e não a comparação destes pacientes com indivíduos saudáveis, de forma que a opção de realizar análises invasivas em indivíduos saudáveis não se justificaria.

6 CONCLUSÃO

O treinamento físico aeróbico provocou expressiva melhora na disfunção autonômica, no FSM e na capacidade funcional de pacientes com cardiopatia chagásica e função sistólica preservada. Adicionalmente, a redução da ANSM esteve associada a melhora da sensibilidade barorreflexa cardíaca, a redução do tônus simpático cardiovascular e a redução da expressão gênica de Atrogin-1 e MuRF-1. Portanto, o treinamento físico aeróbico é uma terapia não farmacológica que deve ser indicada para os pacientes nesta fase da doença de Chagas, podendo melhorar o prognóstico dos mesmos.

7 REFERÊNCIAS

1. Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *The Lancet*. 2010; 375(9723): p. 1388-1402.
2. Chagas disease (American trypanosomiasis). Organização Mundial de Saúde [Interne]. [Acesso em 13.12.2015]. Disponível em: <http://www.who.int/chagas/epidemiology/en/>.
3. Nunes MCP, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, others. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013; 62(9): p. 767-776.
4. Martins-Melo F, Ramos Jr A, Alencar C, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: A systematic review and meta-analysis. 2014; 130: p. 167-174.
5. Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2007; 102: p. 75-86.
6. Yadon ZE, Schmunis GA. Congenital Chagas disease: estimating the potential risk in the United States. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2009; 81(6): p. 927-933.
7. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Marin-Neto JA, Dantas RO, et al. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. *Jama*. 2007; 298(18): p. 2171-2181.
8. Schofield C, Dias J. A cost-benefit analysis of chagas disease control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1991; 86(3): p. 285-295.

9. Freitas HF, Chizzola PR, Paes ÂT, Lima AC, Mansur AJ. Risk stratification in a Brazilian hospital-based cohort of 1220 outpatients with heart failure: role of Chagas' heart disease. *International journal of cardiology*. 2005; 102(2): p. 239-247.
10. Mady C, Cardoso R, Barretto A, da Luz PL, Bellotti G, Pileggi F. Survival and predictors of survival in patients with congestive heart failure due to Chagas' cardiomyopathy. *Circulation*. 1994; 90(6): p. 3098-3102.
11. El-Sayed NM, Myler PJ, Bartholomeu DC, Nilsson D, Aggarwal G, Tran AN, et al. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. *Science*. 2005; 309(5733): p. 409-415.
12. Marin-Neto JA, Simões MV, Sarabanda AVL. Cardiopatia chagásica. *Arq Bras Cardiol*. 1999; 72(3): p. 247-63.
13. Souza HM, Wanderley DMV, Brener S, Nascimento RD, Antunes CMF, Dias JCP. Hemoterapia e doença de Chagas transfusional no Brasil. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*. 1994; 116(5): p. 406-18.
14. Menezes CA, Bittencourt A, Mota E, Sherlock I, Ferreira J. Avaliação da parasitemia em mulheres portadoras de infecção pelo *Trypanosoma cruzi* durante e após a gestação. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1992; 25: p. 109-113.
15. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *The Lancet infectious diseases*. 2001; 1(2): p. 92-100.
16. Dias JP. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease. A clinical epidemiological review. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1989; 22(3): p. 147-56.

17. Ianni B, Artega E, Frimm C, Pereira Barreto A, Mady C. Chagas' heart disease evolutive evaluation of electrocardiographic and echocardiographic parameters in patients with the indeterminate form. *Arq Bras Cardiol.* 2001 Jul; 77(1): p. 59-62.
18. Rochite C, Oliveira P, Andrade J, Ianni B, Parga J, Avila L, et al. Myocardial delayed enhancement by magnetic resonance imaging in patients with Chagas' disease: a marker of disease severity. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Oct; 46(8): p. 1553-8.
19. Mady C, Ianni B, Artega E, Montes G, Caldini E, Andrade G, et al. Relation between interstitial myocardial collagen and the degree of clinical impairment in Chagas' disease. *Am J Cardiol.* 1999 Aug; 84(3): p. 354-6.
20. Laranja FS, Dias E, Nobrega G, Miranda A. Chagas' disease A clinical, epidemiologic, and pathologic study. *Circulation.* 1956; 14(6): p. 1035-1060.
21. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation.* 2007; 115(9): p. 1109-1123.
22. Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease a systematic review of observational studies. *Circulation.* 2007; 115(9): p. 1101-1108.
23. Negrão CE, Santos AC, Rondon MU, Franco FG, Ianni B, Rochitte CE, et al. Muscle sympathetic nerve activity in patients with Chagas' disease. *International journal of cardiology.* 2009; 137(3): p. 252-259.
24. Consolim-Colombo FM, Barreto Filho JA, Lopes HF, Sobrinho CRR, Otto ME, Riccio GMG, et al. Decreased cardiopulmonary baroreflex sensitivity in Chagas' heart disease. *Hypertension.* 2000; 36(6): p. 1035-1039.

25. Barreto-Filho JAS, Consolim-Colombo FM, Lopes HF, Sobrinho CRM, Guerra-Riccio GM, Krieger EM. Dysregulation of peripheral and central chemoreflex responses in Chagas' heart disease patients without heart failure. *Circulation*. 2001; 104(15): p. 1792-1798.
26. Amorim D, Marin-Neto J. Functional alterations of the autonomic nervous system in Chagas' heart disease. *Sao Paulo Med J*. 1995; 113: p. 772-784.
27. Junqueira Jr L, Gallo Jr L, Manço J, Marin-Neto J, Amorim D. Subtle cardiac autonomic impairment in Chagas' disease detected by baroreflex sensitivity testing. *Braz J Med Biol Res*. 1985; 18: p. 171-178.
28. Marin-Neto J, Bromberg-Marin G, Pazin-Filho A, Simões M, Maciel B. Cardiac autonomic impairment and early myocardial damage involving the right ventricle are independent phenomena in Chagas' disease. *Int J Cardiol*. 1998; 65: p. 261-269.
29. Ribeiro A, Moraes R, Ribeiro J, Ferlin E, Torres R, Oliveira E, et al. Parasympathetic dysautonomia precedes left ventricular systolic dysfunction in Chagas' disease. *Am Heart J*. 2001; 141: p. 260-265.
30. Barbosa-Ferreira J, Mady C, Ianni B, Lopes HF, Ramires F, Salemi V, et al. Dysregulation of Autonomic Nervous System in Chagas' Heart Disease Is Associated with Altered Adipocytokines Levels. *Plos One JCR*. 2015; 10.
31. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *New England journal of medicine*. 1984; 311(13): p. 819-823.
32. Brouwer J, van Veldhuisen DJ, In't Veld AJM, Haaksma J, Dijk WA, Visser KR, et al. Prognostic value of heart rate variability during long-term follow-up in

- patients with mild to moderate heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996; 28(5): p. 1183-1189.
33. Kinugawa T, Ogino K, Osaki S, Kato M, Igawa O, Hisatome I, et al. Prognostic significance of exercise plasma noradrenaline levels for cardiac death in patients with mild heart failure. *Circulation journal*. 2002; 66(3): p. 261-266.
34. Barretto AC, Santos AC, Munhoz R, Rondon MU, Franco FG, Trombetta IC, et al. Increased muscle sympathetic nerve activity predicts mortality in heart failure patients. *International journal of cardiology*. 2009; 135(3): p. 302-307.
35. Mirizzi G, Giannoni A, Bramanti F, Ripoli A, Varanini M, Bernardi L, et al. A simple method for measuring baroreflex sensitivity holds prognostic value in heart failure. *International journal of cardiology*. 2013; 169(1): p. e9--e11.
36. Mancia G, Parati G, Pomidossi G, Casadei R, Di Rienzo M, Zanchetti A. Arterial baroreflexes and blood pressure and heart rate variabilities in humans. *Hypertension*. 1986; 8(2): p. 147-153.
37. Conway J, Boon N, Floras J, Vann JJ, Sleight P. Impaired control of heart rate leads to increased blood pressure variability. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*. 1984; 2(3): p. S395--6.
38. Floras JS, Hassan MO, Jones JV, Osikowska BA, Sever PS, Sleight P. Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *Journal of hypertension*. 1988; 6(7): p. 525-536.
39. Aires MdM. *Fisiologia: Guanabara-Koogan*; 1999.

40. Irigoyen MC, Consolim-Colombo FM, Krieger EM. Cardiovascular control: role of the sympathetic nervous system. *Revista Brasileira de Hipertensão*. 2001; 8(1): p. 55-62.
41. Sarmiento A, Trombetta I, Antunes-Correa L, Formaggio P, Fonseca F, Marques A, et al. A cardiopatia chagásica crônica sem disfunção ventricular sistólica aumenta a atividade simpática e reduz a sensibilidade barorreflexa. In XXXVI Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo; 2015; São Paulo. p. 25.
42. Bacurau A, Jardim M, Ferreira J, Bechara L, Bueno Jr C, Alba-Loureiro T, et al. Sympathetic hyperactivity differentially affects skeletal muscle mass in developing heart failure: role of exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 2009 May; 106(5): p. 1631-1640.
43. Duscha B, Annex B, Green H, Phippen A, Kraus W. Deconditioning fails to explain peripheral skeletal muscle alterations in men with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Apr;(39): p. 1170-4.
44. Larsen A, Lindal S, Aukrust P, Toft I, Aarsland T, Dickstein K. Effect of exercise training on skeletal muscle fibre characteristics in men with chronic heart failure. Correlation between skeletal muscle alterations, cytokines and exercise capacity. *Int J Cardiol*. 2002 Apr;(83): p. 25-32.
45. Drexler H, Riede U, Münzel T, König H, Funke E, Just H. Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. *Circulation*. 1992 May;(85): p. 1751-9.
46. Magnusson G, Kaijser L, Rong H, Isberg B, Sylvén C, Saltin B. Exercise capacity in heart failure patients: relative importance of heart and skeletal muscle. *Clin Physiol*. 1996 Mar;(16): p. 183-95.

47. Montes de Oca M, Torres SH, Loyo JG, Vazquez F, Hernández N, Anchustegui B, et al. Exercise Performance and Skeletal Muscles in Patients With Advanced Chagas Disease. *Chest*. 2004 Apr; 125(4): p. 1306-14.
48. Torres S, Finol H, Montes de Oca M, Vásquez F, Puigbó J, Loyo J. Capillary damage in skeletal muscle in advanced Chagas' disease patients. *Parasitology Research*. 2004 Aug; 93(5): p. 364-8.
49. Meckert P, Laguens R. Selectivity of alterations in skeletal fibers in chronic Chagas' disease of the mouse. *Experientia*. 1988 Jan; 44(1): p. 14-6.
50. Teixeira M, Dvorak J. *Trypanosoma cruzi*: histochemical characterization of parasitized skeletal muscle fibers. *J Protozool*. 1985 May; 32(2): p. 339-41.
51. Baez A, Reynoso M, Lo Presti M, Bazán P, Strauss M, Miler N, et al. Mitochondrial dysfunction in skeletal muscle during experimental Chagas' disease. *Expo Mol Pathol*. 2015 Jun; 98(3): p. 467-75.
52. Mady C, Ianni B, Artega E, Salemi V, de Carvalho Frim C. Maximal functional capacity in patients with Chagas' cardiomyopathy without congestive heart failure. *J Card Fail*. 2000 Sep; 6(3): p. 220-4.
53. Coats A, Adamopoulos S, Radaelli A, McCance A, Meyer T, Bernardi L, et al. Controlled trial of physical training in chronic heart failure. Exercise performance, hemodynamics, ventilation, and autonomic function. *Circulation*. 1992; 85(6): p. 2119-2131.
54. Toepfer M, Meyer K, Maier P, Dambacher M, Theisen K, Roskamm H, et al. Influence of Exercise Training and Restriction of Activity on Autonomic Balance

- in Patients with Severe Congestive Heart Failure. *Clinical Science*. 1996; 91(s1): p. 116-116.
55. Radaelli A, Coats AJS, Leuzzi S, Piepoli M, Meyer TE, Calciati A, et al. Physical Training Enhances Sympathetic and Parasympathetic Control of Heart Rate and Peripheral Vessels in Chronic Heart Failure. *Clinical Science*. 1996; 91(s1): p. 92-94.
56. Roveda F, Middlekauff HR, Rondon MUP, Reis SF, Souza M, Nastari L, et al. The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure: a randomized controlled trial. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003; 42(5): p. 854-860.
57. Franco FGG, Santos AC, Rondon MUP, Trombetta IC, Strunz C, Braga AMW, et al. Effects of home-based exercise training on neurovascular control in patients with heart failure. *European journal of heart failure*. 2006; 8(8): p. 851-855.
58. Negro C, Middlekauff H. ADAPTATIONS IN AUTONOMIC FUNCTION DURING EXERCISE TRAINING IN HEART FAILURE. *Heart Fail Rev*. 2008 Feb; 13(1): p. 51-60.
59. Antunes-Correa LM, Kanamura BY, Melo RC, Nobre TS, Ueno LM, Franco FG, et al. Exercise training improves neurovascular control and functional capacity in heart failure patients regardless of age. *European journal of preventive cardiology*. 2012; 19(4): p. 822-829.
60. Groehs RV, Toschi-Dias E, Antunes-Correa LM, Trevizan PF, Rondon MUPB, Oliveira P, et al. Exercise training prevents the deterioration in the arterial baroreflex control of sympathetic nerve activity in chronic heart failure patients.

American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. 2015; 308(9): p. H1096--H1102.

61. Hambrecht R, Fiehn E, Yu J, Niebauer J, Weigl C, Hilbrich L, et al. Effects of endurance training on mitochondrial ultrastructure and fiber type distribution in skeletal muscle of patients with stable chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 1997 Apr; 29(5): p. 1067-73.
62. Tyni-Lenné R, Gordon A, Jansson E, Bermann G, Sylvén C. Skeletal muscle endurance training improves peripheral oxidative capacity, exercise tolerance, and health-related quality of life in women with chronic congestive heart failure secondary to either ischemic cardiomyopathy or idiopathic dilated cardiomyopat. *Am J Cardiol.* 1997 Oct; 80(8): p. 1025-9.
63. Cunha T, Bacurau A, Moreira J, Paixão N, Campos J, Ferreira J, et al. Exercise training prevents oxidative stress and ubiquitin-proteasome system overactivity and reverse skeletal muscle atrophy in heart failure. *PLoS One.* 2012; 7(8).
64. Gielen S, Sandri M, Kozarez I, Kratzsch J, Teupser D, Thiery J, et al. Exercise training attenuates MuRF-1 expression in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure independent of age: the randomized Leipzig Exercise Intervention in Chronic Heart Failure and Aging catabolism study. *Circulation.* 2012 Jun; 125(22): p. 2716-27.
65. Glass D. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005; 37(10): p. 1974-84.
66. Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda).* 2008; 23: p. 160-70.

67. Glass D. Signaling pathways perturbing muscle mass. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010; 13(3): p. 225-9.
68. Glickman M, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*. 2002; 82(2): p. 373-428.
69. Sorokin A, Kim E, Ovchinnikov L. Proteasome System of Protein Degradation and Processing. *Biochemistry*. 2009; 74: p. 1411-42.
70. Jentsch S. The ubiquitin-conjugation system. *Annual Review of Genetics*. 1992; 26: p. 179-207.
71. Bodine S, Latres E, Baumhueter S, Lai V, Nunez L, Clarke B, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*. 2001 Nov; 294(5547): p. 1704-8.
72. Centner T, Yano J, Kimura E, McElhinny A, Pelin K, Witt C, et al. Identification of muscle specific ring finger proteins as potential regulators of the titin kinase domain. *J Mol Biol*. 2001 Mar; 306(4): p. 717-26.
73. Association AD, others. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014; 37(Supplement 1): p. S81--S90.
74. VII Diretrizes Brasil de Hipertensão Arterial. 2016 Sep. Acesso em: 20 maio de 2017.
75. Guimarães JI, Moffa PJ, Uchida AH. Normatização dos equipamentos e técnicas para a realização de exames de eletrocardiografia e eletrocardiografia de alta resolução. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2003; 80: p. 572-578.

76. Pastore C, Pinho C, Germiniani H, Samesima N, Mano R. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre análise e emissão de laudos eletrocardiográficos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2009; 93(3): p. 1-19.
77. Nascimento BR, Lima MMO, Nunes MdCP, Alencar MCNd, Costa HS, Pinto Filho MM, et al. Effects of Exercise Training on Heart Rate Variability in Chagas Heart Disease. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2014; 103(3): p. 201-208.
78. Wallin B. Assessment of sympathetic mechanisms from recordings of postganglionic efferent nerve traffic. *Cardiovascular reflex control in health and disease*. 1993;: p. 65-93.
79. Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MUP, Laterza MC, Kuniyoshi FH, Gowdak MM, et al. Weight loss improves neurovascular and muscle metaboreflex control in obesity. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2003; 285(3): p. H974--H982.
80. Negrão CE, Rondon MUPB, Tinucci T, Alves MJN, Roveda F, Braga AMW, et al. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001; 280(3): p. H1286--H1292.
81. European Society of Cardiology TFot, others. Heart rate variability standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur Heart J*. 1996; 17: p. 354-381.
82. Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, et al. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*. 2007; 49(6): p. 1298-1306.

83. Gardenghi G, Rondon MUP, Braga AMF, Scanavacca MI, Negr, Sosa E, et al. The effects of exercise training on arterial baroreflex sensitivity in neurally mediated syncope patients. *European heart journal*. 2007; 28(22): p. 2749-2755.
84. Negrão C, Moreira E, Santos M, Farah V, Krieger E. Vagal function impairment after exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 1992; 72(5): p. 1749-1753.
85. Negrão C, Irigoyen M, Moreira E, Brum P, Freire P, Krieger E. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1993; 265(2): p. R365--R370.
86. Skinner JS, McLellan TH. The transition from aerobic to anaerobic metabolism. *Research quarterly for exercise and sport*. 1980; 51(1): p. 234-248.
87. Guazzi M, Reina G, Tumminello G, Guazzi MD. Improvement of alveolar-capillary membrane diffusing capacity with exercise training in chronic heart failure. *Journal of applied physiology*. 2004; 97(5): p. 1866-1873.
88. Nachlas M, Tsou K, de Souza E, Cheng C, Seligman A. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J Histochem Cytochem*. 1957; 5: p. 420-36.
89. Rondon E, Brasileiro-Santos M, Moreira E, Rondon M, Mattos K, Coelho M, et al. Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Dec; 291(6): p. 2801-6.
90. Kingwell B, Arnold P, Jennings G, Dart A. Spontaneous running increases aortic compliance in Wistar-Kyoto rats. *Cardiovasc Res*. 1997 Jul; 35(1): p. 132-7.

91. Monahan K, Tanaka H, Dinunno F, Seals D. Central Arterial Compliance Is Associated With Age- and Habitual Exercise–Related Differences in Cardiovascular Baroreflex Sensitivity. *Circulation*. 2001 Oct; 104(14): p. 1627-32.
92. Villacorta H, Bortolotto L, Arteaga E, Mady C. Aortic distensibility measured by pulse-wave velocity is not modified in patients with Chagas' disease. *Journal of Negative Results in Biomedicine*. 2006 Jun; 5: p. 1-9.
93. DiBona G, Jones S, Brooks V. ANG II receptor blockade and arterial baroreflex regulation of renal nerve activity in cardiac failure. *American Journal of Physiology*. 1995 Nov; 269: p. 1189-96.
94. Campagnole-Santos MJ, Haibara AS. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão*. 2001; 8(1): p. 30-40.
95. Liu J, Irvine S, Reid I, Patel K, Zucker I. Chronic Exercise Reduces Sympathetic Nerve Activity in Rabbits With Pacing-Induced Heart Failure. *Circulation*. 2000 Oct; 102(15): p. 1854-62.
96. Pan Y, Gao L, Wang W, Zheng H, Liu D, Patel K, et al. Exercise Training Prevents Arterial Baroreflex Dysfunction in Rats Treated With Central Angiotensin II. *Hypertension*. 2007 Mar; 49(3): p. 519-27.
97. Antunes-Correa L, Nobre T, Groehs R, Alves M, Fernandes T, Couto G, et al. Molecular basis for the improvement in muscle metaboreflex and mechanoreflex control in exercise-trained humans with chronic heart failure. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2014; 307(11): p. 1655-6.
98. Pliquet R, Cornish K, Patel K, Schultz H, Peuler J, Zucker I. Amelioration of depressed cardiopulmonary reflex control of sympathetic nerve activity by short-

- term exercise training in male rabbits with heart failure. *J. Appl. Physiol.* 2003; 95: p. 1883-8.
99. Li Y, Ding Y, Agnew C, Schultz H. Exercise training improves peripheral chemoreflex function in heart failure rabbits. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Sep; 105(3): p. 782-90.
100. Fraga R, Franco FGG, Roveda F, Matos LN, Braga AM, Rondon MU, et al. Exercise training reduces sympathetic nerve activity in heart failure patients treated with carvedilol. *European journal of heart failure.* 2007; 9(6-7): p. 630-636.
101. Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, et al. Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1998; 98(24): p. 2709-2715.
102. Negrão CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart failure reviews.* 2008; 13(1): p. 51-60.
103. Lima MM, Rocha MOC, Nunes MCP, Sousa L, Costa HS, Alencar MCN, et al. A randomized trial of the effects of exercise training in Chagas cardiomyopathy. *European journal of heart failure.* 2010; 12(8): p. 866-873.
104. Fialho PH, Tura BR, Sousa ASd, Oliveira CRd, Soares CCS, Oliveira JRd, et al. Effects of an exercise program on the functional capacity of patients with chronic Chagas' heart disease, evaluated by cardiopulmonary testing. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2012; 45(2): p. 220-224.
105. Segovia V, Manterola C, González M, Rodríguez-Núñez I. The exercise training restores the heart rate variability in heart failure patients. A systematic review. *Arch Cardiol Mex.* 2017 Jan; 16.

106. Pagani M, Montano N, Porta A, Malliani A, Abboud F, Birkett C, et al. Relationship between spectral components of cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. *Circulation*. 1997 Mar; 95(6): p. 1441-8.
107. Jackman R, Kandarian S. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004; 287(4): p. 834-43.
108. Okoshi M, Romeiro F, Paiva S, Okoshi K. Caquexia associada à insuficiência cardíaca. *Arq. Bras. Cardiol*. 2013; 100(5): p. 476-82.
109. Anker S, Ponikowski P, Varney S, Chua T, Clark A, Webb-Peploe K, et al. Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet*. 1997 Apr; 349(9058): p. 1050-3.
110. Mancini D, Walter G, Reichek N, Lenkinski R, Mccully K, Mullen J, et al. Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. *Circulation*. 1992; 85: p. 1364-73.
111. Powers S, Kavazis A, McClung J. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J Appl Physiol*. 2007; 102(6): p. 2389-97.
112. Filippin L, Vencelino R, Marroni N, Xavier R. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatoide. *Rev Bras Reumatol*. 2008; 48(1): p. 17-24.
113. Carvalho R, Castan E, Coelho C, Lopes F, Almeida F, Michelin A, et al. Heart failure increases atrogen-1 and MuRF1 gene expression in skeletal muscle with fiber type-specific atrophy. *J Mol Histol*. 2010 Feb; 41(1): p. 81-7.

114. Niebauer J. Inflammatory mediators in heart failure. *International Journal of Cardiology*. 2000; 72(3): p. 209-13.
115. Moylan J, Reid M. Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. *Muscle and Nerve*. 2007; 35(4): p. 411-29.
116. Bacurau A, Cunha T, Souza R, Voltarelli V, Gabriel-Costa D, Brum P. Aerobic Exercise and Pharmacological Therapies for Skeletal Myopathy in Heart Failure: Similarities and Differences. *Oxid Med Cell Longev*. 2016.