

GIANE AMORIM RIBEIRO-SAMORA

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO
BALANÇO REDOX DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO, EM
INDIVÍDUOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CRÔNICA**

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional/UFMG

2012

GIANE AMORIM RIBEIRO-SAMORA

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO
BALANÇO REDOX DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO, EM
INDIVÍDUOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CRÔNICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências da Reabilitação.

Área de concentração: Desempenho Funcional Humano.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Raquel Rodrigues Britto

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Luiza Antas Rabêlo

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional/UFMG

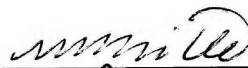
2012

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM REABILITAÇÃO
DEPARTAMENTOS DE FISIOTERAPIA E DE TERAPIA OCUPACIONAL
SITE: www.eeffto.ufmg.br/mreab E-MAIL: mreab@eeffto.ufmg.br FONE/FAX: (31) 3409-4781

ATA DE NÚMERO 17 (DEZESSETE) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DE
TESE APRESENTADA PELA CANDIDATA **IANE AMORIM RIBEIRO SAMORA** DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO.-----

Aos 30 (trinta) dias do mês de março do ano de dois mil e doze, realizou-se na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, a sessão pública para apresentação e defesa da tese intitulada: "**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO BALANÇO REDOX DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO, EM INDIVÍDUOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CRÔNICA**". A comissão examinadora foi constituída pelos seguintes Professores Doutores: Raquel Rodrigues Britto, Hugo Celso Dutra de Souza, Luci Fuscaldi Teixeira-Salmela, Danielle Aparecida Gomes Pereira, Cláudia Lopes Penaforte sob a presidência da primeira. Os trabalhos iniciaram-se às 08:30 horas com apresentação oral da candidata, seguida de arguição dos membros da Comissão Examinadora. Após avaliação, os examinadores consideraram a candidata **aprovada e apta a receber o título de Doutor após a entrega da versão definitiva da Tese**. Nada mais havendo a tratar, eu, Eni da Conceição Rocha, secretária do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação dos Departamentos de Fisioterapia e de Terapia Ocupacional da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 30 de março de 2012.

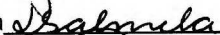
Professora Dra. Raquel Rodrigues Britto



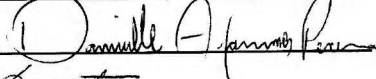
Professor Dr. Hugo Celso Dutra de Souza



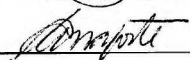
Professora Dra. Luci Fuscaldi Teixeira-Salmela



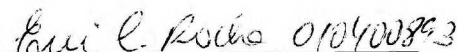
Professora Dra. Danielle Aparecida Gomes Pereira



Professora Dra. Cláudia Lopes Penaforte



Eni da Conceição Rocha

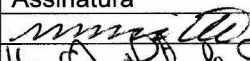
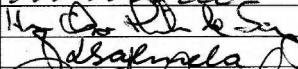
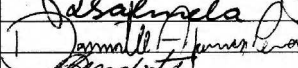
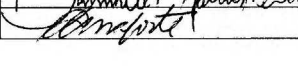


Secretária do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM REABILITAÇÃO
DEPARTAMENTOS DE FISIOTERAPIA E DE TERAPIA OCUPACIONAL
SITE: www.eeffto.ufmg.br/mreab E-MAIL: mreab@eeffto.ufmg.br FONE/FAX: (31) 3409-4781

PARECER

Considerando que a Tese de Doutorado de **GIANE AMORIM RIBEIRO SAMORA** intitulada **“AVALIAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO BALANÇO REDOX DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO, EM INDIVÍDUOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CRÔNICA”**, defendida junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, nível: Doutorado cumpriu sua função didática, atendendo a todos os critérios científicos, a Comissão Examinadora **APROVOU** a Tese de doutorado, conferindo-lhe as seguintes indicações:

Nome do Professor (a)/Banca	Aprovação	Assinatura
Profa. Dra. Raquel Rodrigues Britto	APROVADO	
Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza	APROVADO	
Profa. Dra. Luci Fuscaldi Teixeira-Salmela	APROVADO	
Profa. Dra. Danielle Aparecida Gomes Pereira	APROVADO	
Profa. Dra. Cláudia Lopes Penaforte	APROVADO	

Belo Horizonte, 30 março de 2012.


Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação/EEFFTO/UFMG
Livia de Castro Magalhães
Coordenadora do Colegiado
Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação
Inscrição UFMG-20777/Inscrição Curso-132022-6

*Aos meus pais, que me deram a vida
e ensinaram-me a vivê-la com
dignidade, minha eterna gratidão.*

AGRADECIMENTOS

Chegou o momento de agradecer a todos que me ajudaram a fazer com que este trabalho se concretizasse. Alguns doaram parte do seu tempo para me ajudar nas coletas, outros compreenderam a minha ausência e estiveram presentes em meu coração e outros ofereceram um “ombro amigo” nos momentos mais difíceis...

Enfim, foram quatro anos de muito estudo e aprendizado, em busca de um sonho nascido ainda na graduação, há quase 20 anos... Mas, valeu a pena!!!

Agradeço a todos de coração!

À Prof^a. Raquel Rodrigues Britto, pesquisadora e profissional séria e competente. Obrigada pela confiança, disponibilidade e orientações que tornaram possíveis este trabalho. Foi um privilégio tê-la como orientadora.

À Prof^a. Luiza Antas Rabêlo, minha co-orientadora e amiga de longa data que, mesmo estando do outro lado do mundo, minimizou o meu “estresse oxidativo”. Obrigada pelo apoio nas dosagens, discussões e também pela maravilhosa hospedagem.

À Prof^a. Leani Souza Máximo Pereira, pelo auxílio técnico-científico na parte de inflamação e pelo respeito e cordialidade que sempre pautaram a nossa relação.

À Prof^a. Danielle Gomes Pereira, minha amiga Dani, parceira antiga, desde os tempos do UniBH. Precisamos retomar “os trabalhos”, como dizia nossa amiga Adriana Parentoni...

À Prof^a. Luci Fuscaldi Teixeira-Salmela, quem me inspirou a seguir o caminho acadêmico. Guardo como um prêmio, aquela cópia da sua dissertação de mestrado. Se hoje estou aqui, a responsabilidade foi sua...

Em especial, aos professores Verônica Parreira e Marcelo Velloso pelo apoio, auxílio técnico e disponibilidade.

À Prof^a. Glaucevane Guedes (UFAL) e à Daniele Sirineu (UFMG), pelo grande auxílio nas dosagens bioquímicas.

Aos companheiros do LabCare-UFMG, pela agradável convivência.

À Danielle Soares, Isabela Sclauser, Ana Carolina Ferreira, Roseane Rodrigues, Michelle Fávero, Bruna Vieira, Susan Lage, Aline Andrioni e Fernanda Soares Corrêa, pessoas especiais que fizeram a minha caminhada ser mais leve.

De modo especial, à Dayane Montemezzo, Maria Luiza Carvalho, Maria Clara Alencar, Otávia Vieira e Priscilla Kristel. Sem vocês, eu dificilmente teria conseguido finalizar as coletas. Muito obrigada!

Aos funcionários dos Departamentos de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG, em especial à Marilane Soares, pela presteza e disponibilidade.

Às queridas, Lygia Lustosa e Adriana Parentoni, pelas conversas divertidas e apoio nos momentos mais críticos.

À Lívia Lazzarotto, minha “chefe” e amiga. Obrigada pelo carinho, incentivo e liberações estratégicas.

À Rosinha, um anjo que Deus pôs em minha vida. Obrigada por cuidar de mim e da minha família.

À Lorena Amorim, minha afilhada que também fez parte do mutirão da campanha *“Vamos ajudar a Giane a terminar o doutorado?”*

Aos meus pais, Ribeiro e Delza, e aos meus irmãos, Márcio e Luciana, pela ajuda nas horas mais difíceis. Obrigada por poder contar com vocês!

À Juliana, minha filha. Você foi o maior e melhor de todos os meus projetos! Fico feliz em ouvir você dizer que vai querer fazer Doutorado, quando crescer... Espero que eu tenha conseguido driblar bem os momentos em que precisei ficar ausente. A mamãe te ama!

Ao meu grande amor, Márcio Samora, que estive ao meu lado nos últimos 25 anos, me incentivando e me apoiando. Obrigada pela paciência!

E, por fim, a ti, Senhor, por permitir a concretização de um mais esse sonho e por estar ao meu lado nessa grande e magnífica jornada que é a vida.

“Sede como os pássaros que, ao pousarem um instante sobre ramos muito leves, sentem-nos ceder, mas cantam! Eles sabem que possuem asas”.
(Victor Hugo)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Insuficiência cardíaca	19
2.2 Inflamação, exercício físico e insuficiência cardíaca	23
2.3 Estresse oxidativo, exercício e insuficiência cardíaca	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Cuidados éticos e local da pesquisa	31
3.2 Tipo de estudo	32
3.3 Amostra	32
3.3.1 Critérios de inclusão	32
3.3.2 Critérios de exclusão	33
3.3.3 Cálculo amostral	33
3.4 Procedimentos	34
3.4.1 Teste de esforço cardiopulmonar – TECP	34
3.4.2 Perfil de Atividade Humana – PAH	38
3.4.3 Teste de caminhada de seis minutos – TC6'	42
3.5 Análises bioquímicas	44
3.5.1 Inflamação	45
3.5.2 Estresse oxidativo	45
3.6 Análise estatística	46

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Artigo 1	49
4.2 Artigo 2	71
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
REFERÊNCIAS.....	90
ANEXOS.....	105

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BNP: peptídeo natriurético do tipo B

CAT: catalase

DC: débito cardíaco

DNA: ácido desoxirribonucleico

EAA: escore ajustado de atividade

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

EMA: escore máximo de atividade

eNOS: óxido nítrico sintase endotelial

EOV: oscilação ventilatória ao exercício

ERO: espécie reativa de oxigênio

FC: frequência cardíaca

FEVE: fração de ejeção ventricular esquerda

GSH-Px: glutathione peroxidase

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

IC: insuficiência cardíaca

IL-1: interleucina-1

IL-1 α : interleucina-1 α

IL-1 β : interleucina-1 β

IL-1ra: antagonista do receptor da interleucina-1

IL-6 : interleucina-6

IL-6R: receptor da interleucina-6

IL-10: interleucina-10

IL-18: interleucina-18

INF γ : interferon-gamma

iNOS: óxido nítrico sintase indutível

MDA: malonildialdeído

MET: equivalente metabólico

NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADPH: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NADPH-ox: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase

NF-kB: fator de transcrição nuclear kappa B

NOS: óxido nítrico sintase

NYHA: New York Heart Association

O₂: oxigênio

OH: radical hidroxil

OUES: eficiência da inclinação do consumo de oxigênio

PA: pressão arterial

PAH: Perfil de Atividade Humana

PSE: percepção subjetiva de esforço

SOD: superóxido dismutase

SODec: superóxido dismutase ligada ao endotélio

SpO₂: saturação periférica de oxigênio

sTNFR1: receptor solúvel 1 do fator de necrose tumoral alfa

sTNFR2: receptor solúvel 2 do fator de necrose tumoral alfa

TBARS: substância reativa ao ácido tiobarbitúrico

TC6': teste de caminhada de seis minutos

TECP: teste de esforço cardiopulmonar

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

VCO₂: produção de dióxido de carbono

V_E/VCO₂: relação ventilação-minuto e produção de dióxido de carbono

V_E/VCO₂ slope: inclinação da relação V_E/VCO₂

V_E: ventilação-minuto

VO₂: consumo de oxigênio

VO₂LA: consumo de oxigênio no limiar anaeróbico

VO₂max: consumo máximo de oxigênio

VO₂pico: consumo de oxigênio de pico

RESUMO

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome complexa que resulta tanto em disfunção cardíaca quanto em alterações bioquímicas, neuro-hormonais, inflamatórias e estresse oxidativo. Tanto a inflamação quanto o estresse oxidativo estão relacionados à patogênese e à progressão da doença e contribuem para a baixa capacidade funcional desses pacientes. A avaliação da capacidade funcional apresenta um importante valor clínico, pois traz informações prognósticas, fornece dados para prescrição de exercícios físicos e pode ser um indicador de atividades de vida diária. O teste de caminhada de seis minutos (TC6'), o questionário Perfil de Atividade Humana (PAH) e o teste de esforço cardiopulmonar (TECP) são instrumentos que mensuram direta ou indiretamente a capacidade funcional. Além disso, o exercício físico é reconhecido como terapêutica coadjuvante capaz de atenuar as alterações fisiopatológicas da IC e promover melhora da qualidade de vida. Nesse sentido, a primeira parte desta tese teve o objetivo de comparar os efeitos agudos de exercícios, de diferentes intensidades e duração, sobre os marcadores inflamatórios, sTNFR1 (receptor solúvel-1 do fator de necrose tumoral alfa) e IL6 (interleucina-6), e sobre o estresse oxidativo (malonildialdeído – MDA e a atividade das enzimas antioxidantes: *catalase* - CAT e *superóxido dismutase* – SOD), em indivíduos com IC. **Métodos:** 18 pacientes com IC ($45,4 \pm 11,3$ anos, fração de ejeção ventricular esquerda: $36,7 \pm 10,3\%$), realizaram três sessões de exercícios: M30 – moderada intensidade ($60\% \text{VO}_{2\text{pico}}$) por 30 minutos; L30 – leve intensidade ($40\% \text{VO}_{2\text{pico}}$), 30 minutos e L45 – leve intensidade por 45 minutos (isocalórico M30). Análises sanguíneas foram realizadas antes do exercício (pré), imediatamente após (pós) e 1h após o final de cada sessão (1h após), para determinação de sTNFR1, IL6, MDA, CAT e SOD. **Resultados:** em M30 houve um aumento de sTNFR1 e MDA pós-exercício ($p < 0,05$), seguido pelo aumento de IL6 e CAT 1h após ($p < 0,05$). Em L30 foi observado apenas o aumento de IL6 pós-exercício ($p < 0,05$) e nenhuma alteração significativa nos níveis de sTNFR1, MDA, CAT e SOD. Em L45 houve aumento de MDA pós-exercício ($p < 0,05$) e de CAT 1h após ($p < 0,05$), semelhante ao que ocorreu em M30. **Conclusões:** A intensidade do exercício foi o fator mais determinante para os ajustes fisiológicos do que a duração. O exercício M30 promoveu um maior estímulo estressor tanto pró-inflamatório e pró-

oxidante, quando comparado aos exercícios L30 e L45. Em resposta ao estresse do exercício, houve uma ação anti-inflamatória e ativação do sistema de defesa antioxidante, 1h após o exercício M30. O segundo estudo, objetivou avaliar a validade do PAH em estimar a capacidade funcional de indivíduos com IC e avaliar a sua associação com as variáveis relacionadas à funcionalidade, como a distância percorrida no TC6'. **Métodos:** 62 indivíduos com IC, média de idade: $47,98 \pm 10,84$ anos, classes I a III da NYHA, realizaram um TECP e responderam o questionário PAH. E, em outro dia, realizaram o TC6'. Foram analisados o consumo de oxigênio de pico (VO_2 pico) medido no TECP e o estimado no PAH, além da distância percorrida no TC6'. A concordância entre o VO_2 pico medido *versus* o estimado foi avaliada pelo método de Bland-Altman. A validade concorrente do PAH com a distância no TC6' foi verificada pela análise de regressão linear. **Resultados:** não houve concordância entre VO_2 pico medido *versus* o estimado. A distância percorrida no TC6' apresentou uma moderada correlação com o VO_2 pico do PAH ($r=0,62$; $p<0,0001$). **Conclusão:** a estimativa do VO_2 pico por meio do PAH não foi concordante com a medida padrão-ouro do TECP. Por outro lado, o PAH se associou moderadamente com um outro preditor de capacidade funcional, o TC6', e conseguiu diferenciar as classes funcionais da NYHA, sendo, portanto, um instrumento útil para avaliação do estado funcional e da limitação ao exercício físico nesses pacientes.

Palavras-chave: Insuficiência cardíaca. Inflamação. Estresse oxidativo. Exercício. Capacidade funcional. Reprodutibilidade.

ABSTRACT

Heart failure (HF) is a complex syndrome that results both in heart dysfunction and biochemical, neurohormonal, inflammatory and oxidative stress alterations. Inflammation and oxidative stress are related to the disease's pathogenesis and progression and contribute to the low functional capacity of these patients. The functional capacity assessment is of important clinical value, since it has prognostic information, gives data for physical exercise prescription and can be an indicator of activities of daily living. The 6-minute walking test (6'WT), the Human Activity Profile questionnaire (HAP) and the Cardiopulmonary Exercise Testing (CPET) are instruments that measure functional capacity directly or indirectly. Furthermore, physical exercise is recognized as an adjuvant therapeutic able to reduce the pathophysiological alterations of HF and promote an enhancement in quality of life. In this regard, the aimed of the first part of this study was to compare the effects of three exercises of different intensities and durations on the inflammatory markers sTNFR1 and IL-6 and on the oxidative stress (malondialdehyde- *MDA* and the activity of the antioxidant enzymes: catalase – *CAT* and superoxide dismutase – *SOD*) in individuals with chronic heart failure (HF). **Methods:** 18 patients with HF (45.4 ± 11.3 years old, left ventricular ejection fraction: $36.7 \pm 10.3\%$, NYHA I - III), performed three exercise sessions: M30 – moderate intensity ($60\% \text{VO}_{2\text{peak}}$) for 30 minutes; L30 – mild intensity ($40\% \text{VO}_{2\text{peak}}$) for 30 minutes and L45 – mild intensity for 45 minutes (M30 isocaloric). Blood analysis was performed before the exercise (baseline), immediately after (after) and 1 hour after the end of each session (after 1h), in order to determine sTNFR1, IL-6, *MDA*, *CAT* and *SOD*. **Results:** In M30 there was an increase of sTNFR1 and *MDA* immediately after exercise, followed by an increase of IL-6 and *CAT* after 1h. In L30, only an increase of IL-6 after exercise was observed and no significant alterations on the sTNFR1, *MDA*, *CAT* and *SOD* levels. As for exercise L45, there was an increase of *MDA* after exercise and of *CAT* after 1h, similar to what occurred for M30. **Conclusions:** The exercise intensity was a more determining factor for the physiological adjustments than the exercise duration. The moderate intensity exercise for 30 minutes (M30) promoted a larger stressor stimulus both pro-inflammatory and pro-oxidative, when compared to exercises L30

and L45. In response to this stressor stimulus, after 1h there was an anti-inflammatory action of IL-6 inhibiting the expression of TNF- α , as well as the activation of the enzyme antioxidant system, expressed by the CAT increase. The second study aimed at assessing the HAP's validity in estimating the functional capacity of individuals with HF and its association with the variables related to functionality, such as distance walked in the 6'WT. **Methods:** 62 individuals with HF, average age of 47.98 ± 10.84 years, NYHA classes I to III, performed a CPET and answered the HAP questionnaire. On another day, they performed the 6'WT. The peak oxygen consumption (VO₂peak) measured by CPET and the one estimated by the HAP as well as the distance walked on the 6'WT were assessed. The agreement between measured VO₂peak *versus* estimated VO₂peak was assessed by the Bland-Altman method. The concurrent validity of HAP with the distance walked on the 6'WT was verified by linear regression analysis. **Results:** there was no agreement between measured VO₂peak *versus* estimated VO₂peak. The distance walked on the 6'WT showed a moderate association with the VO₂peak of the HAP ($r=0.62$; $p<0.0001$). **Conclusion:** the estimation of VO₂peak by the HAP did not agree with the gold standard measure of CPET. On the other hand, the HAP was moderately associated to another functional capacity predictor, the 6'WT, and was able to differentiate the NYHA functional classes. It is, thus, a useful instrument to assess the functional state and limitation to physical exercise of these patients.

Keywords: Heart failure. Inflammation. Oxidative stress. Exercise. Functional capacity. Reproducibility.

1 INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) é descrita como uma complexa síndrome clínica, caracterizada por uma incapacidade primária do coração em manter um débito cardíaco (DC) adequado para atender as necessidades metabólicas (KEMP & CONTE, 2012), associada a uma inabilidade tecidual secundária em utilizar o oxigênio ofertado (PIÑA *et al.*, 2003). As alterações periféricas presentes na doença mostram estreita relação com a reduzida capacidade funcional e contribuem para a baixa tolerância ao esforço (PIÑA, 2010; GUIMARÃES *et al.*, 2008; NEGRÃO & MIDDLEKAUFF, 2008; PIEPOLI *et al.*, 2006; KO & MCKELVIE, 2005).

Associado à ativação neuro-hormonal, a ativação inflamatória também está aumentada na doença (BRAUNWALD, 2008). Os níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, especialmente o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e as interleucinas 1 β e 6 (IL-1 β e IL-6), estão relacionados a um pior prognóstico (BATISTA JR. *et al.*, 2009; ORUS *et al.*, 2000). O TNF- α é um polipeptídeo que atua em quase todos os tipos de células nucleadas, na sua forma solúvel ou por meio de dois tipos de receptores de membrana: tipo 1 (sTNFR1), o mais forte e preciso indicador prognóstico inflamatório de mortalidade em pacientes com IC (RAUCHHAUS *et al.*, 2000) e tipo 2 (sTNFR2) (ANKER & VON HAEHLING, 2004; ADAMOPOULOS *et al.*, 2001). A IL-6 é uma citocina produzida em resposta à infecção, à produção de IL-1, interferon-gamma e TNF- α (EL-MENYAR, 2008), mas parece exercer um papel tanto inflamatório (GUASH *et al.*, 2010; BATISTA JR. *et al.*, 2009) como anti-inflamatório (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; STEENSBERG *et al.*, 2002). Concentrações elevadas de IL-6 estão associadas a um pior prognóstico (EL-MENYAR, 2008) e a sua ação anti-inflamatória se dá pela inibição da expressão do TNF- α e da IL-1 e está vinculada a sua produção muscular local (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; PEDERSEN & FISCHER, 2007).

O estresse oxidativo ocorre quando o sistema oxidante sobrepõe-se à defesa antioxidante do organismo, sendo definido como “*um estado em que a exposição a radicais livres ou outros oxidantes representam um desafio para a função normal*”

(DAVIES, 1993). Esse processo também é conhecido como desbalanço redox e pode exercer efeitos deletérios sobre a função endotelial, assim como sobre a patogênese e progressão da IC (BRAUNWALD, 2008). Além disso, a inflamação, a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e do sistema nervoso autônomo simpático aumentam os níveis circulantes de catecolaminas e, consequentemente, o estresse oxidativo. Estudos clínicos e experimentais em IC descreveram a presença do desbalanço redox, caracterizado tanto pelo aumento da atividade pró-oxidante quanto pela diminuição nos mecanismos de defesa antioxidante (BLUM, 2009; CASTRO *et al.*, 2008; MIRANDA *et al.*, 2006; KAMEDA *et al.*, 2003). O estresse oxidativo e a inflamação estão interligados pela ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B). Assim, as espécies reativas de oxigênio (ERO) podem promover inflamação e disfunção endotelial e vice-versa (KOTLYAR *et al.*, 2006).

O exercício físico pode, agudamente, induzir ao estresse oxidativo e à inflamação, em um primeiro momento (STEENSBERG *et al.*, 2002), seguido pela ativação dos sistemas de defesa antioxidante (BELVIRANLI & GÖKBEL, 2006) e anti-inflamatório (PEDERSEN & FISCHER, 2007).

Assim, a primeira parte desta tese teve o objetivo de avaliar o efeito agudo da intensidade e da duração do exercício sobre os parâmetros inflamatórios e sobre o estresse oxidativo, em pacientes com IC, das classes I a III da *New York Heart Association* (NYHA).

A segunda parte discutirá a validade do questionário Perfil de Atividade Humana (PAH) em estimar a capacidade funcional de pacientes com IC, além de avaliar a associação desse instrumento com o teste de caminhada de seis minutos (TC6').

A capacidade funcional é definida pelo *American College of Sports Medicine* (ACSM) (GARBER *et al.*, 2011), como:

a capacidade de realizar tarefas diárias com vigor e disposição, sem fadiga excessiva e com ampla energia para usufruir do lazer e para atender os imprevistos. A sua operacionalização se dá como um conjunto de atributos e habilidades mensuráveis que incluem capacidade cardiorrespiratória, equilíbrio, agilidade, tempo de reação e potência. E atividade física é qualquer movimento produzido pelos músculos esqueléticos que resulta em dispêndio energético acima dos níveis basais.

A avaliação da capacidade funcional de pacientes com IC é indispensável para a estratificação de risco e avaliação prognóstica. Deste modo, o teste de esforço cardiopulmonar (TECP) tem sido considerado o método padrão-ouro para esta finalidade (INGLE, 2008). Entretanto, devido ao elevado custo do equipamento, a necessidade de uma equipe treinada e de uma infraestrutura adequada para realização do teste, seu uso rotineiro ainda é limitado. Neste sentido, testes submáximos têm sido propostos como uma alternativa para avaliar o estado funcional desses pacientes. Assim, o teste de caminhada de seis minutos (TC6') tem surgido como uma opção viável, reproduzível (INGLE *et al.*, 2007), além de ser um indicador de atividades de vida diária (CRAPO *et al.*, 2002).

O PAH é um instrumento desenvolvido para estimar a capacidade funcional e o nível de atividade física de indivíduos saudáveis ou com alguma disfunção e que mensura atividades que variam desde as atividades de vida diária e instrumental até as atividades recreacionais e esportivas, que apresentam uma maior demanda energética (FIX & DAUGHTON, 1988). Sua validade em estimar a capacidade funcional já foi descrita em pacientes sob hemodiálise (OVEREND *et al.*, 2010), idosos com osteoartrite de joelhos (BILEK *et al.*, 2005), doença pulmonar obstrutiva crônica (NIELD *et al.*, 2005), HIV positivos (BARNETT, 2008), dentre outros, exceto em pacientes com IC. Daí, a necessidade de se avaliar a validade do PAH em estimar a capacidade funcional, bem como estabelecer a sua relação com o TC6'.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Insuficiência cardíaca

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome progressiva, caracterizada pela intolerância ao exercício, dispnéia, fadiga e piora na qualidade de vida, resultante da

incapacidade do coração em manter um débito cardíaco adequado às demandas teciduais, sendo o estágio final de muitas formas de doenças cardiovasculares (DOWNING & BALADY, 2011).

No Brasil, a principal etiologia da IC é a cardiopatia isquêmica crônica, seguida da hipertensão arterial. Nas regiões de baixa condição socioeconômica ainda existem formas de IC associadas à doença de Chagas, endomiocardiofibrose e a cardiopatia valvular reumática crônica (BOCCHI *et al.*, 2009).

O impacto econômico da doença é elevado para o sistema de saúde, representando a terceira maior causa geral de internação e a primeira causa entre as doenças cardiovasculares, em pessoas com mais de 65 anos. Somente no ano de 2011, houve aproximadamente 250.000 internações, representando um gasto superior a 300 milhões de reais (MINISTÉRIO DA SAÚDE - DATASUS, 2012).

A presença da disfunção ventricular sistólica, diastólica ou mista, associada à dilatação e/ou hipertrofia ventricular esquerda, leva a alterações neuro-hormonais e circulatórias que se iniciam antes mesmo do surgimento dos sintomas e exercem efeitos deletérios que determinarão a progressão da doença e alterações periféricas limitantes da capacidade de exercício (CRIMI *et al.*, 2009; HUNT *et al.*, 2009).

As alterações hemodinâmicas envolvem resposta inadequada do débito cardíaco e elevação das pressões pulmonar e venosa sistêmica (BOCCHI *et al.*, 2009). Na tentativa de manter a perfusão tecidual, são ativados mecanismos compensatórios, como o aumento da atividade simpática eferente, ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, aumento dos níveis de arginina-vasopressina, das endotelinas e dos peptídeos natriuréticos, especialmente o do tipo B (BNP) (KEMP & CONTE, 2012; LINDENFELD *et al.*, 2010). Em curto prazo, esses mecanismos ajudam a manter o débito cardíaco, a pressão arterial e a perfusão periférica, mas em longo prazo levam à hipertrofia cardíaca, apoptose dos cardiomiócitos, proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno intersticial, remodelamento cardíaco adverso, piora da função ventricular, aumento da resistência vascular periférica e o surgimento de sinais e sintomas de congestão e de hipoperfusão (KEMP & CONTE, 2012; RAMANI *et al.*, 2010).

As alterações periféricas também estão relacionadas com a capacidade funcional reduzida. A atrofia muscular, diminuição do percentual de fibras tipo I e aumento do tipo IIb, a redução da capacidade oxidativa muscular, o aumento da atividade ergorreflexa, o atenuado aumento do fluxo sanguíneo para os músculos durante o exercício, associada a uma capacidade vasodilatadora reduzida, são comuns em pacientes com IC e contribuem para a baixa tolerância ao esforço (BELLI *et al.*, 2011; DOWNING & BALADY, 2011, FLYNN *et al.*, 2009).

Sabe-se que o treinamento com exercícios traz uma série de benefícios a esses pacientes, pois promovem redução dos sintomas de dispnéia e fadiga (ELAHI *et al.*, 2010), aumentam a tolerância aos esforços físicos (EL-MENYAR, 2008), melhoram a qualidade de vida (FLYNN *et al.*, 2009; VAZIRI, 2008), reverterem o remodelamento ventricular de pacientes com disfunção sistólica ventricular esquerda (HAYKOWSKY *et al.*, 2007), melhoram a função endotelial e a capacidade vasodilatadora periférica (ELAHI *et al.*, 2010), reduzem as hospitalizações (BRUM *et al.*, 2011; CRIMI *et al.*, 2009), dentre outros benefícios.

O *Heart Failure: a controlled trial investigating outcomes of exercise training* – HF action (O’CONNOR *et al.*, 2009), o maior estudo multicêntrico, randomizado e controlado em pacientes com IC, avaliou os efeitos do treinamento físico sobre desfechos primários: hospitalizações e mortalidade por todas as causas. A amostra foi constituída por pacientes com IC sistólica (n= 2331), com fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE) $\leq 35\%$, pertencentes às classes II a IV da NYHA. O treinamento consistiu de um programa de exercícios aeróbios de moderada intensidade, 60-70% da frequência cardíaca (FC) de reserva, com duração de 30 a 35 minutos, realizado três vezes por semana, por 36 semanas. Após esse período, o treinamento foi mantido em nível domiciliar, cinco vezes por semana, com 40 minutos de duração e com a mesma intensidade. Os resultados mostraram que o treinamento não modificou os desfechos primários: hospitalizações e mortalidade por todas as causas. Entretanto, após os ajustes dos dados pelos principais fatores prognósticos, como a duração do teste de esforço cardiopulmonar, FEVE, nível de depressão e história de fibrilação atrial ou flutter, identificou-se 15% de redução na mortalidade cardiovascular e hospitalizações no grupo do exercício em relação ao controle.

Em relação aos resultados do estudo *HF-action* (O'CONNOR *et al.*, 2009), alguns levantamentos precisam ser considerados. Primeiro, o aumento no consumo de oxigênio de pico (VO_{2pico}) de apenas 4% no grupo treinamento está muito abaixo do relatado por outros autores (PINA *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2010; VAN TOL *et al.*, 2006). Segundo, a duração média semanal de exercício domiciliar, no grupo treinamento, foi de 60 minutos/semana, ou seja, abaixo dos 200 minutos esperados e apenas 29 a 42% dos pacientes estavam realizando os exercícios conforme recomendado, ao final do estudo. Terceiro, cerca de 50% dos pacientes do grupo controle afirmaram estar insatisfeitos com o tratamento recebido e parte deles admitiu ter iniciado um outro programa de exercícios durante a realização do estudo. Portanto, apesar de outros autores considerarem que o treinamento físico seja capaz de reduzir internações e, provavelmente, também a mortalidade (PIEPOLI *et al.*, 2011; FLYNN *et al.*, 2009), essa polêmica questão ainda permanece. Independentemente desta controvérsia, o *American College of Cardiology* e a *American Heart Association* (HUNT *et al.*, 2009) permanecem recomendando o treinamento físico como parte integrante da abordagem terapêutica para os pacientes com IC estável.

No entanto, a intensidade de exercício que é capaz de promover as adaptações benéficas tem sido muito variada. A *American Heart Association* (PIÑA *et al.*, 2003) recomenda exercícios de leve a moderada intensidade (40 a 65% VO_{2pico}), mas reconhece alguns benefícios do treinamento intervalado de alta intensidade (> 65% VO_{2pico}). Além disso, preconiza o treinamento de resistência muscular como parte integrante da prescrição de exercícios. Alguns estudos avaliaram os benefícios do treinamento intervalado de alta intensidade e encontraram resultados mais positivos do que os exercícios de moderada e leve intensidades (WISLOFF *et al.*, 2007; ROVEDA *et al.*, 2003). Pereira *et al.* (2011) ao comparar os ajustes imunológicos ao exercício agudo de leve (40% VO_{2pico}) *versus* moderada intensidade (60% VO_{2pico}), encontraram resultados superiores na intensidade mais elevada.

Diante disso, torna-se necessário avaliar se os benefícios encontrados nos exercícios de maior intensidade são dependentes realmente da intensidade ou do maior gasto energético dessas atividades. Além disso, é preciso considerar a relação

risco-benefício dos exercícios de intensidades mais elevadas nos pacientes com IC, uma vez que a presença de doença cardíaca pode aumentar o risco de morte súbita durante exercícios vigorosos (McKELVIE, 2008; THOMPSON *et al.*, 2007). Apesar de relatado na literatura um número baixo de eventos adversos com os programas de treinamento de alta intensidade em pacientes com IC (WISLOFF *et al.*, 2007), a adesão a esses programas foi menor do que nos de moderada intensidade (BARBOUR & MILLER, 2008; DUNCAN *et al.*, 2005), similarmente ao que ocorre com a população em geral (PERRI *et al.*, 2002).

2.2 Inflamação, exercício físico e insuficiência cardíaca

Diversas manifestações clínicas encontradas na IC, a gravidade da doença e o seu prognóstico podem ser explicados pelo processo inflamatório crônico, caracterizado por altos níveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e da interleucina-6 (IL-6) (MANN, 2002; RAUCHHAUS *et al.*; 2000).

Coats *et al.* (1994) propuseram, há quase duas décadas, a “Hipótese muscular da IC”, segundo a qual, as alterações degenerativas seriam decorrentes de uma perfusão reduzida nos músculos esqueléticos, causada pelo baixo débito cardíaco, resultando em hipóxia tecidual. Essa resposta, em longo prazo, levaria a um aumento na produção de radicais livres, que é um potente estímulo para a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α e as interleucinas 1 β e IL-6, mediadas pelo fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B). Esse processo iniciaria uma cascata de eventos tanto em nível cardíaco quanto periférico, com o aumento da expressão da enzima *óxido nítrico sintase indutível* (iNOS), apoptose do músculo esquelético e dos cardiomiócitos, remodelamento cardíaco, proliferação celular, caquexia, efeito inotrópico negativo, perda de massa muscular, disfunção endotelial e o aumento da expressão de células de adesão (BOZKURT *et al.*, 2010; BLUM, 2009; DUSCHA *et al.*, 2008).

Apesar da relação entre IC e inflamação ter sido estabelecida há mais de 20 anos por Levine et al. (1990), ao observarem que os pacientes com IC apresentavam níveis elevados de TNF- α , muitos estudos, desde então, têm mostrado que outras citocinas pró-inflamatórias, dentre elas a IL-1, IL-6 e a IL-18, também estão envolvidas neste processo e que os níveis circulantes de TNF- α , IL-6 e dos receptores solúveis de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) têm sido apontados como preditores de mortalidade (BOZKURT *et al.*, 2010; BATISTA JR. *et al.*, 2009; CRIMI *et al.*, 2009; BRAUNWALD, 2008).

O TNF- α é um polipeptídeo trimérico, de meia-vida muito curta, cerca de 30 minutos, produzido principalmente por monócitos e macrófagos ativados, além de linfócitos, fibroblastos, neutrófilos, células musculares lisas e mastócitos, mediante o estímulo de hipóxia, estresse mecânico e das endotoxinas (um lipopolissacarídeo liberado da parede celular das bactérias gram-negativas) (MANN, 2002). As ações biológicas desta citocina são mediadas por dois tipos de receptores celulares: TNFR1 e TNFR2, presentes tanto no músculo esquelético como no cardíaco (ANKER & VON HAEHLING, 2004). Os fragmentos extracelulares de ambos os receptores, quando liberados da membrana celular, podem ser quantificados em sua forma solúvel (sTNFR) na urina ou no plasma, e apontados como reguladores da atividade biológica desta citocina (BATISTA JR. *et al.*, 2009). Sob baixas concentrações, os sTNFR estabilizam e aumentam a meia-vida dessa citocina e sob altas concentrações podem inibir a atividade do TNF- α . Além disso, acredita-se que altas concentrações dos receptores solúveis indicam uma história de concentrações elevadas de TNF- α (ANKER & VON HAEHLING, 2004; RAUCHHAUS *et al.*, 2000).

A IL-6 é uma citocina com uma ampla gama de efeitos humorais e imunológicos, produzida em resposta à infecção, IL-1, interferon-gamma (INF γ) e TNF- α , possui uma meia-vida inferior a 6 horas (EL-MENYAR, 2008) e parece exercer um papel tanto inflamatório (ORUS *et al.*, 2000) como anti-inflamatório (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; STEINACKER *et al.*, 2004).

Os níveis séricos elevados de IL-6 estão diretamente associados com a ativação autonômica simpática, com a sintomatologia, com a piora da classe funcional da NYHA e com a mortalidade, sendo considerado o marcador prognóstico de sobrevida com grande poder preditivo em um ano, principalmente, quando

associado à fração de ejeção do ventrículo esquerdo e ao consumo de oxigênio de pico ($VO_{2\text{pico}}$) (EL-MENYAR, 2008). Dentre suas ações inflamatórias destacam-se a proliferação e maturação de linfócitos, a hipertrofia de cardiomiócitos e a indução da proteólise muscular, levando à atrofia muscular e perda de massa corporal (YNDESTAD *et al.*, 2006; MINGUELL, 2004).

Os estudos que avaliaram o papel anti-inflamatório da IL-6 consideraram que sua produção local poderia estar positivamente correlacionada à intensidade do exercício e com o consumo de glicose (PEDERSEN & FISCHER, 2007; STEINACKER *et al.*, 2004). Além disso, poderia representar uma “isoforma” da IL-6, diferente daquela produzida pelas células inflamatórias (PEDERSEN & FISCHER, 2007). Diferentemente da IL-1 e do $TNF-\alpha$, a IL-6 não apresenta efeito *upregulation* sobre os principais mediadores inflamatórios como o óxido nítrico e as metaloproteinases matriz. Ao contrário, a IL-6 inibe diretamente a expressão do $TNF-\alpha$ e da IL-1, além de induzir a ativação do antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1ra), exercendo ação anti-inflamatória por meio do bloqueio dos receptores IL-1, impedindo assim a transdução de sinal da citocina pró-inflamatória IL-1 (SHIMPO *et al.*, 2004).

Na IC, a deteriorada função cardíaca, *per se*, é capaz de modular a resposta inflamatória. No entanto, com o exercício físico, os ajustes fisiológicos são modulados com o objetivo de manter a homeostase, diante de uma maior demanda energética. Assim, as respostas decorrentes do exercício agudo (uma única sessão) diferem daquelas resultantes do exercício crônico (treinamento). Os ajustes mediados por uma única sessão de exercício físico são dependentes de uma série de fatores, como a intensidade, duração e massa muscular envolvida (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; PEDERSEN & FISCHER, 2007).

Imediatamente após uma única sessão de exercícios físicos, alguns estudos encontraram um aumento da IL-6 plasmática, acompanhada por um aumento das citocinas IL-1ra (antagonista do receptor da IL-1) e IL-10, sem aumento de $TNF-\alpha$, o que demonstraria uma ação anti-inflamatória (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; PEDERSEN & FISCHER, 2007). Os mecanismos que explicam esse aumento da IL-6 ainda não estão completamente esclarecidos, mas parecem ser mediados por

fatores intrínsecos ao exercício, como um baixo estoque de glicogênio, reduzida disponibilidade de glicose, liberação de catecolaminas, aumento do cálcio intracelular, hipertermia pelo exercício e a isquemia/reperfusão muscular (PEDERSEN & FISCHER, 2007). No entanto, esses resultados ainda são controversos na literatura.

Zaldivar *et al.* (2006) relataram um aumento da IL-6, do TNF- α e IL-1 α , logo após uma sessão de exercício físico realizado a 80% VO₂max, com duração de 30 minutos, em indivíduos jovens e saudáveis. Mas, 60 minutos após o término da sessão, foi observado também um aumento da IL-10 e redução do TNF- α . Diante desses resultados, os autores concluíram que o exercício agudo foi capaz de provocar, inicialmente, um estímulo estressor pró-inflamatório, seguido, na fase de recuperação, por uma resposta anti-inflamatória.

Em um estudo anterior a esta tese de doutorado, Pereira *et al.*⁹³ avaliaram a resposta da IL-6 e do sTNFR1, em indivíduos com IC, das classes II e III da NYHA, logo após e uma hora após 30 minutos de caminhada em esteira, em duas intensidades diferentes: baixa e moderada intensidade (40% e 60% VO₂pico, respectivamente). No exercício de baixa intensidade nenhuma alteração na IL-6 ou no sTNFR1 foi observada. No entanto, na atividade de moderada intensidade houve um aumento de sTNFR1 imediatamente após o exercício e de IL-6 uma hora após o final do exercício, com os níveis de sTNFR1 retornando aos valores basais após uma hora do final da sessão. Por especulação, esses resultados poderiam sugerir que o aumento da IL-6 observado no exercício de moderada intensidade foi decorrente da produção muscular de IL-6, cuja ação anti-inflamatória inibiu a produção de TNF- α e, conseqüentemente, reduziu a expressão do seu receptor solúvel (sTNFR1), uma hora após o exercício.

O treinamento físico (exercício crônico) consiste em uma repetição frequente de estímulos físicos que promovem desequilíbrio metabólico e danos celulares agudamente, seguidos por processos de reparo que resultam em adaptações positivas. Portanto, o efeito anti-inflamatório do exercício físico regular, descrito por vários autores (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2008; PEDERSEN & FISCHER, 2007; WOODS *et al.*, 2006; ADAMOPOULOS *et al.*, 2002), considera que a redução

observada nos níveis plasmáticos de TNF- α seja mediada pelo aumento da IL-6, o que não representa um consenso na literatura. Em alguns estudos, o treinamento físico reduziu os níveis plasmáticos basais de IL-6, juntamente com a redução do TNF- α e de seus receptores solúveis sTNFR1 e sTNFR2 e aumentou a expressão muscular do receptor da IL-6 (IL-6R) (KELLER *et al.*, 2005), da IL-1ra e da IL-10 (FISCHER, 2006). É possível que, neste caso, o *downregulation* da IL-6 tenha sido compensado pelo aumento da expressão de IL-6R muscular.

A prescrição de exercício físico para pacientes com IC apresenta parâmetros de intensidade e duração muito variados e as respostas fisiológicas ao esforço são dependentes desses parâmetros. Assim, torna-se necessário discutir como as intensidades de esforço leve e moderada afetariam os níveis séricos de IL-6 e sTNFR1, em pacientes com IC e, a partir desses resultados, postular se as respostas pró e anti-inflamatórias, ao exercício agudo, promoveriam o estímulo necessário às adaptações crônicas benéficas do treinamento.

2.3 Estresse oxidativo, exercício e insuficiência cardíaca

A intolerância ao exercício é uma das complicações mais comuns nos pacientes com IC e, apesar da capacidade de exercício ser afetada pela disfunção cardíaca, a fração de ejeção apresenta fraca ($r=0,21$; $p=0,02$) (WITTE *et al.*, 2004) ou nenhuma correlação com o desempenho funcional (HACKER *et al.*, 2003). Assim sendo, as alterações periféricas observadas no controle do fluxo sanguíneo, no metabolismo oxidativo, na atividade ergorreflexa aumentada, sugerem que as anormalidades na musculatura esquelética parecem afetar mais significativamente a capacidade de exercício (BELLI *et al.*, 2011; DOWNING & BALADY, 2011; CRIMI *et al.*, 2009).

O estresse oxidativo tem sido outro achado de relevância clínica que contribui para a deterioração da função cardíaca (HARE & STAMLER, 2005). As espécies reativas de oxigênio (ERO) podem ser formadas no coração e em outros tecidos por uma

série de mecanismos que incluem a fosforilação oxidativa mitocondrial, presente no metabolismo aeróbio e indispensável no processo de obtenção de energia para a vida, a modulação do sistema enzimático *NADH/NADPH oxidase* e *óxido nítrico sintase* (NOS), liberação de citocinas inflamatórias como o TNF- α e as interleucinas e as alterações neuro-hormonais (CANDIA *et al.*, 2007; SHIZUKUDA & BUTTRICK, 2002).

O oxigênio (O_2) que respiramos tem um papel fundamental na formação de radicais livres, uma vez que 2 a 5% serão transformados em ERO, tais como o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($OH^\cdot$), que podem causar a peroxidação lipídica, oxidação protéica e danos à molécula de DNA (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004), situações essas relacionadas a uma série de condições patológicas, incluindo a IC (MIRANDA *et al.*, 2007; GIORDANO, 2005). Por outro lado, as ERO têm um papel importante em vários processos biológicos, estando envolvidas em uma variedade de vias de sinalização celular, na modulação de fatores de transcrição nuclear, incluindo o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), desempenhando uma função importante na modulação da inflamação (GIORDANO, 2005).

Em condições fisiológicas, para contrabalancear a produção das ERO existe o sistema de defesa antioxidante, constituído por mecanismos enzimáticos (*catalase* - CAT, *glutathione peroxidase* - GSH-Px e *superóxido dismutase* - SOD) e não enzimáticos (vitamina E, C, beta caroteno e a glutathione). O estresse oxidativo, também conhecido como desbalanço redox, ocorre quando há um desequilíbrio com desvio para formação das ERO (KOPEL *et al.*, 2003).

As principais fontes das ERO na IC incluem as células inflamatórias, as mitocôndrias dos cardiomiócitos, os fibroblastos e os sistemas enzimáticos *NADPH oxidase* e *xantina oxidase* (KAMEDA *et al.*, 2003). Alguns estudos têm demonstrado que o estresse oxidativo, proveniente do desbalanço redox, parece estar principalmente relacionado ao predomínio dos mecanismos pró-oxidantes sobre os antioxidantes (TSUTSUI, 2006). Maack *et al.* (2003), encontraram no coração de pacientes com IC de origem isquêmica e na cardiomiopatia dilatada, um aumento na atividade da *NADPH oxidase* (*nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase*) associada à formação das ERO. Além disso, também tem sido descrito um aumento na atividade

da enzima *xantino oxidase* (WESELER *et al.*, 2010) e níveis fisiológicos de MDA, um produto da peroxidação lipídica, e da atividade dos sistemas antioxidantes eritrocitários da SOD e CAT (MIRANDA *et al.*, 2006). Simultaneamente à atividade pró-oxidante, Miranda *et al.* (2006) mostraram uma diminuição nos mecanismos de defesa antioxidante pela redução dos níveis da enzima *superóxido dismutase ligada ao endotélio* (SODec) e da vasodilatação dependente do endotélio em pacientes com IC comparados ao grupo controle. Portanto, parece provável a coexistência de uma disfunção tanto no sistema de defesa antioxidante quanto pró-oxidante.

Uma simples sessão de exercício é capaz de induzir à formação das ERO e consequentemente levar ao estresse oxidativo. Isto ocorre porque o exercício realizado agudamente produz uma resposta inflamatória de curto prazo, acompanhada de leucocitose, aumento do estresse oxidativo e dos níveis plasmáticos de proteína C reativa (GOLBIDI *et al.*, 2012). No entanto, quando o estímulo estressor do exercício físico é mantido cronicamente, com o treinamento, as adaptações geradas aumentam a resistência contra as ERO resultantes da peroxidação lipídica e aumentam a defesa antioxidante (BELVIRANLI *et al.*, 2006).

Durante o exercício físico agudo foi demonstrado um aumento nas ERO e, embora não sejam conhecidos os exatos mecanismos de sua formação, sabe-se que o aumento do consumo de oxigênio imposto pela atividade, o aumento da atividade simpática, a capacidade vasodilatadora local prejudicada e a relativa hipoperfusão muscular, levam a sua formação (FISHER-WELLMAN & BLOOMER, 2009; SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Assim, a formação das ERO seria suficiente para ativar o sistema NF- κ B e a produção de quimiocinas, citocinas inflamatórias e de moléculas de adesão, bem como a ativação e a proliferação de linfócitos. Por outro lado, a inflamação também é capaz de provocar estresse oxidativo, uma vez que a formação das ERO também é um produto das células imune ativadas. Deste modo, o estresse oxidativo e a inflamação estariam envolvidos em um ciclo que se autoperpetua (VAZIRI, 2008).

O método mais utilizado para indicar o estresse oxidativo induzido pelo exercício tem sido a avaliação da peroxidação lipídica por meio do MDA e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (FISHER-WELLMAN & BLOOMER, 2009). Apesar de alguns estudos terem relatado um aumento de TBARS após uma sessão de

exercício submáximo (STEINBERG *et al.*, 2007; NIKOLAIDIS *et al.*, 2007; MEIJER *et al.*, 2002), com o retorno aos valores basais após uma hora (STEINBERG *et al.*, 2007), outros não encontraram nenhuma alteração desse marcador de estresse oxidativo com o exercício físico (REVAN *et al.*, 2011; SHI *et al.*, 2007; BLOOMER *et al.*, 2005). Entretanto, todos esses estudos foram realizados com indivíduos saudáveis.

Em pacientes com IC foi observado níveis de MDA mais elevados em repouso comparado aos controles saudáveis e, após uma sessão de exercício agudo, de intensidade máxima também houve um maior aumento desse marcador de peroxidação lipídica (SAYAR *et al.*, 2007).

A prática regular de exercício físico é capaz de melhorar o desequilíbrio *redox* tanto pela melhora do sistema antioxidante enzimático, por meio do aumento na atividade das enzimas *glutathione peroxidase* (GSH-Px), *catalase* (CAT) e da *superóxido dismutase* (SOD) (GAO *et al.*, 2007), quanto pela menor produção das ERO, dada pela redução da expressão da NADPH-ox (*nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase*) (ADAMS *et al.*, 2008).

Linke *et al.* (2005) avaliaram os efeitos antioxidantes de um programa de treinamento aeróbio, realizado a 70% da frequência cardíaca pico, com duração de 20 minutos diários, durante 6 meses, em pacientes com IC, das classes II e III da NYHA. Dentre outros achados, foi observado que o treinamento aumentou a atividade das enzimas antioxidantes CAT e GSH-Px do músculo vasto lateral e reduziu o estresse oxidativo muscular local, evidenciado pela redução da produção de nitrotirosina que reflete a formação do radical peroxinitrito (ONOO⁻).

Em modelos experimentais de IC com animais, foi descrito que o treinamento aeróbio foi capaz de aumentar a expressão da enzima *óxido nítrico sintase endotelial* (eNOS) (RUSH *et al.*, 2005) e, em humanos, a vasodilatação dependente do endotélio (LEUNG *et al.*, 2008). O aumento do débito cardíaco que ocorre durante o exercício aumenta o chamado *shear stress* (estresse de cisalhamento) na parede endotelial que, por sua vez, estimula a expressão da eNOS, que resulta em vasodilatação (LEUNG *et al.*, 2008). Desta maneira, o treinamento atuaria contrabalançando os efeitos negativos da ativação neuro-hormonal, presente na IC,

e suas conseqüências sobre o estresse oxidativo e a inflamação (CRIMI *et al.*, 2009).

Diante do exposto, o primeiro estudo desenvolvido nesta tese de doutorado objetivou avaliar a influência da intensidade e da demanda energética do exercício físico agudo, sobre os níveis séricos de TBARS, CAT e SOD, em pacientes com IC, a fim de avaliar como o estresse oxidativo, proveniente do exercício físico agudo, pode promover o estímulo necessário às adaptações crônicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cuidados éticos e local da pesquisa

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (parecer ETIC: 050/09) (ANEXO 1). Antes de iniciarem a participação na pesquisa, os voluntários receberam todas as informações relacionadas aos objetivos e aos procedimentos metodológicos, bem como os possíveis riscos e benefícios aos quais iriam se submeter. Após os esclarecimentos, leitura e entendimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 2), os participantes deram seu consentimento por escrito e ficaram cientes de que a qualquer momento poderiam abandonar o estudo sem qualquer constrangimento.

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Avaliação e Pesquisa em Desempenho Cardiorrespiratório da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais (LabCare-UFMG).

3.2 Tipo de estudo

ESTUDO I - “Efeitos da intensidade e da duração do exercício agudo sobre os marcadores inflamatórios e balanço redox em indivíduos com insuficiência cardíaca”: estudo do tipo *quasi-experimental*, com delineamento em parcelas/subparcelas (*split-plot*).

ESTUDO II – “O questionário Perfil de Atividade Humana é válido para estimar a capacidade funcional de indivíduos com insuficiência cardíaca?”: estudo observacional transversal.

3.3 Amostra

Formada por pacientes com IC, de ambos os sexos e diferentes etnias, provenientes do Ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital das Clínicas da UFMG e da rede hospitalar e ambulatorial da região metropolitana de Belo Horizonte.

3.3.1 Critérios de inclusão:

- apresentar IC predominantemente sistólica, com fração de ejeção ventricular esquerda – FEVE < 50% (BOCCHI *et al.*, 2009);
- estar clinicamente estável há no mínimo dois meses antes do início do estudo e em tratamento farmacológico otimizado;
- ter idade entre 25 e 59 anos (exceto, para o estudo N°. 2 que incluiu indivíduos com idade entre 18 e 75 anos);
- apresentar índice de massa corpórea – IMC < 30 kg/m²;
- não praticar exercício físico regularmente (exceto, para o estudo N°. 2), conforme as diretrizes do *American College of Sports Medicine* (GARBER *et al.*, 2011).

3.3.2 Critérios de exclusão:

- pertencer à classe funcional IV da NYHA;
- estar em uso de agentes anti-inflamatórios ou de vitaminas A, C e E;
- apresentar outras doenças inflamatórias agudas ou crônicas, exceto a IC;
- apresentar insuficiência renal ou disfunções ortopédicas e neurológicas limitantes à realização de exercício físico/
- apresentar história de doença pulmonar, angina instável, arritmias não controladas ou doença arterial periférica;
- não atingir um índice de trocas respiratórias - $R \geq 1,0$, durante o teste de esforço cardiopulmonar máximo (TECP);

3.3.3 Cálculo amostral

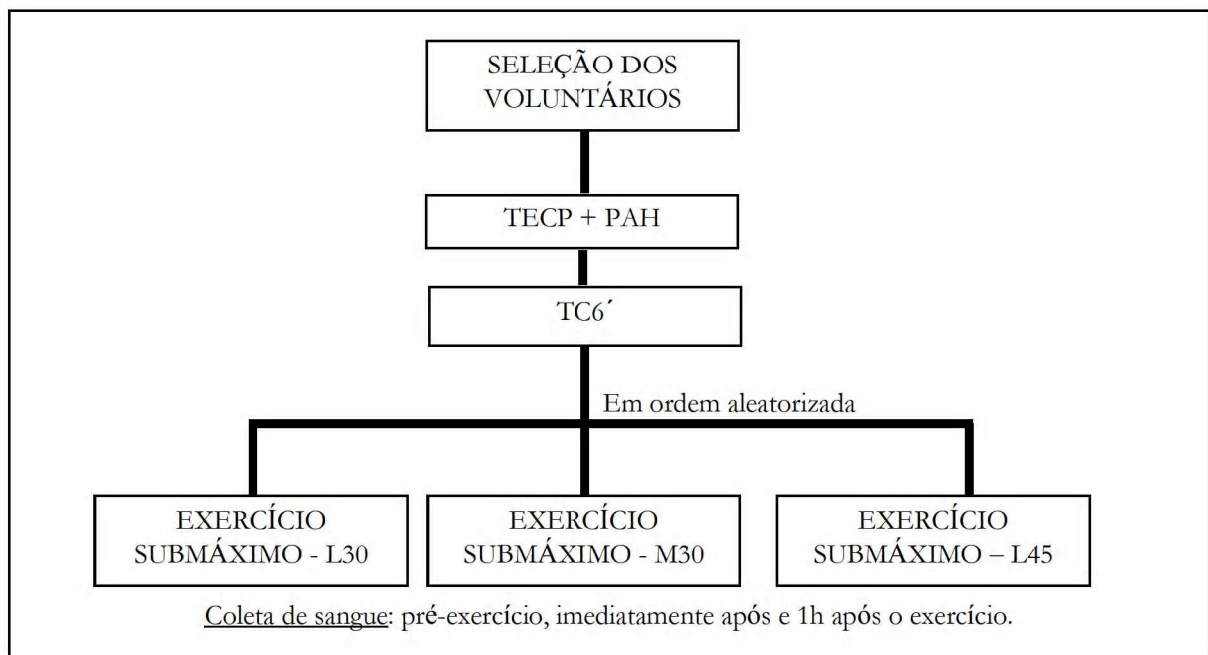
Considerando-se o delineamento do estudo nº. 1, um nível de significância de 5%, um poder estatístico de 80% e um tamanho de efeito moderado (0,64) para a enzima *catalase*, conforme estudo de Linke *et al.* (2005), o cálculo amostral inicial indicou a necessidade de 17 indivíduos.

Para o estudo nº. 2, o cálculo amostral foi baseado em uma análise preliminar da associação do EAA-PAH (escore ajustado de atividade do PAH) com o VO_2 pico mensurado no TECP, de 32 indivíduos com IC, indicando a necessidade de se atingir um N=46 indivíduos.

3.4 Procedimentos

O organograma abaixo ilustra a ordem dos procedimentos realizados no estudo e a descrição deles pode ser lida nas seções seguintes.

As particularidades referentes à coleta de dados também estão descritas nos dois artigos que compõem esta tese.



Legenda – TECP: teste de esforço cardiopulmonar; PAH: questionário Perfil de Atividade Humana; TC6': teste de caminhada de seis minutos; L30: exercício de leve intensidade (40% VO_{2pico}) e duração de 30 minutos; L45: exercício de leve intensidade (40% VO_{2pico}) e duração de 45 minutos; M30: exercício de moderada intensidade (60% VO_{2pico}) e duração de 30 minutos.

3.4.1 Teste de esforço cardiopulmonar – TECP

O teste de esforço cardiopulmonar (TECP) é um método de avaliação das respostas submáximas e máximas ao exercício, dos sistemas cardiovascular, respiratório, neuropsicológico e musculoesquelético. Esta medida não invasiva avalia a capacidade funcional e as medidas de trocas gasosas respiratórias, como o consumo de oxigênio (VO_2), produção de dióxido de carbono (VCO_2) e a ventilação-minuto (V_E), geralmente durante um teste de exercício físico de intensidade progressiva até o máximo. Além disso, comumente, vem associado à monitorização eletrocardiográfica, da pressão arterial (PA) e da oximetria de pulso e apresenta um

importante valor prognóstico para os pacientes com IC (ARENA *et al.*, 2011; BALADY *et al.*, 2010; SARULLO *et al.*, 2010; CORRÁ *et al.*, 2004).

A relevância do TECP nos pacientes com IC é consenso na literatura (ARENA *et al.*, 2011; SARULLO *et al.*, 2010; CRESPO *et al.*, 2009). Há mais de 20 anos, Mancini *et al.* (1991) já haviam demonstrado que o $\text{VO}_{2\text{pico}}$ menor do que $14\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ é um forte preditor de mortalidade em pacientes com IC. No entanto, sob o uso de β -bloqueador o ponto de corte proposto tem sido de $10\text{mL}/\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$ (O'NEILL *et al.*, 2005). Por outro lado, vários autores concordam que o prognóstico piora à medida que o $\text{VO}_{2\text{pico}}$ diminui de $17\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ para $10\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ (ARENA *et al.*, 2011; INGLE, 2008; MYERS *et al.*, 2000). Apesar das divergências a respeito do ponto de corte o $\text{VO}_{2\text{pico}}$ para predição de mortalidade, essa variável associada com outras variáveis obtidas no TECP, principalmente a inclinação $V_E/V\text{CO}_2$ ($V_E/V\text{CO}_2$ slope), aprimoram a avaliação prognóstica desses pacientes (SARULLO *et al.*, 2010). Estudos recentes têm apontado a inclinação $V_E/V\text{CO}_2$ maior ou igual a 34, como outra variável de importante valor prognóstico (SARULLO *et al.*, 2010; CORRÁ *et al.*, 2004; ARENA *et al.*, 2004).

Outras variáveis obtidas no TECP apresentam menor valor prognóstico, no entanto, quando associadas ao $\text{VO}_{2\text{pico}}$ e à inclinação $V_E/V\text{CO}_2$ mostram importante valor aditivo (ARENA *et al.*, 2011). Essas variáveis incluem o consumo de oxigênio no limiar anaeróbio ($\text{VO}_{2\text{LA}}$) inferior a $11\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, presença de oscilação ventilatória ao exercício (EOV), caracterizada pelo padrão oscilatório na V_E que ocorre durante 60% ou mais do TECP com uma amplitude maior ou igual a 15% da média observada em repouso (ARENA *et al.*, 2008; INGLE, 2008), o pulso de oxigênio no pico do exercício inferior a 12mL/bpm (OLIVEIRA *et al.*, 2009) e um menor aumento na inclinação da eficiência do consumo de oxigênio (OUES) (MYERS *et al.*, 2008).

Para avaliar a capacidade funcional dos sujeitos da pesquisa, foi realizado um TECP (FIG. 1), sob supervisão médica, utilizando dois modelos de analisadores de gases: CPX Ultima Medical Graphics®, USA e o MetaLyzer® 3B Cortex, Alemanha (FIG. 2). A confiabilidade entre equipamentos foi testada, a partir da variável $\text{VO}_{2\text{pico}}$, mostrando um coeficiente de correlação intraclasse (CCI) de 0,96.

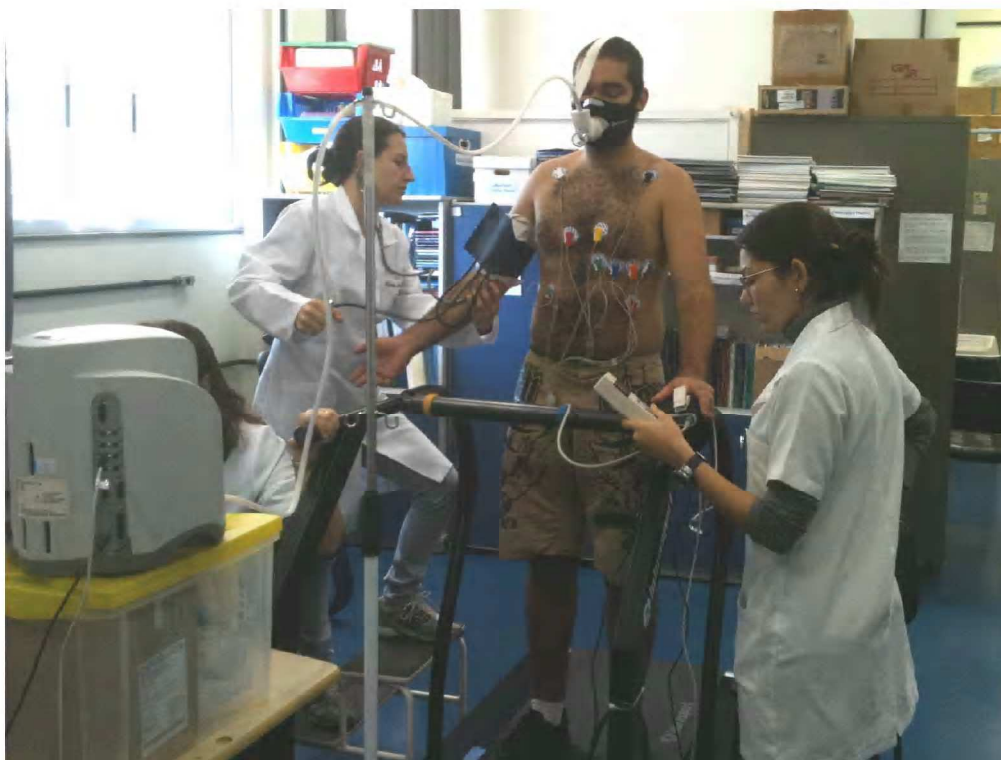


FIGURA 1 - Ilustração de um teste de esforço cardiopulmonar.



FIGURA 2 – Ilustração dos analisadores de gases CPX Ultima Medical Graphics®, USA (A) e MetaLyzer® 3B Cortex, Alemanha (B).

A obtenção dos gases expirados foi obtida pelo método *breath-by-breath* que consiste em captar amostras fracionadas dos gases, a uma taxa de 50 a 100 vezes por segundo, para calcular o consumo de oxigênio (VO_2) e a produção de dióxido de carbono (VCO_2) para cada intervalo. Em seguida, essas medidas são somadas ao longo de toda a expiração, para computar o VO_2 e o VCO_2 produzidos por respiração e extrapolados por minuto (CRAPO *et al.*, 2002).

A pressão arterial foi medida pelo método auscultatório, com um esfigmomanômetro aneróide (*Diasyst®*, *Brasil*) e um estetoscópio (*Litmann Classic II S.E 3M®*, *USA*). A saturação periférica de oxigênio (SpO_2) foi monitorada continuamente por um oxímetro de pulso (*Model 300 Series Mediad INC.*, *Califórnia, USA*), assim como um registro eletrocardiográfico contínuo (*Cardioperfect*, *Welch Allyn®*, *USA*). A percepção subjetiva de esforço (PSE) foi avaliada pela escala de Borg (BORG, 1982) de 0 a 10 (FIG. 3).

0	ABSOLUTAMENTE NADA
0,3	
0,5	EXTREMAMENTE FRACO
1	MUITO FÁCIL
1,5	
2	FRACO
2,5	
3	MODERADO
4	
5	FORTE
6	
7	MUITO FORTE
8	
9	
10	EXTREMAMENTE FORTE

FIGURA 3 - Escala de Borg modificada.
Fonte: Borg, 1982. p. 380¹⁰⁹.

O protocolo de teste utilizado foi em rampa, adaptado de Barbosa e Silva & Sobral Filho (2003), a partir de uma extrapolação polinomial de quarta ordem, para que tivesse uma duração de aproximadamente 10 minutos, em pacientes com IC. Esse protocolo, realizado em esteira eletrônica (*Millenium Classic CI Inbramed/Inbrasport®*, Brasil), foi desenvolvido no Laboratório de Desempenho Cardiorrespiratório e utilizado por Pereira (2009).

Seguindo as recomendações da III Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico (MENEGHELO *et al.*, 2010), os voluntários foram orientados a manter medicação usual, abster-se por 3 horas de cigarros, alimentos/bebidas com cafeína e evitar exercício físico nas 12 horas anteriores ao TECP.

As condições ambientais para realização do TECP foram mantidas entre 18 e 22°C e 40 e 60% de umidade relativa do ar (MENEGHELO *et al.*, 2010) e a pressão barométrica registrada, a fim de assegurar a medida dos gases em condições padronizadas (WEISMAN *et al.*, 2003).

3.4.2 Perfil de Atividade Humana - PAH

O Perfil de Atividade Humana – PAH (*Human Activity Profile*) (ANEXO 3) consiste em um instrumento originariamente desenvolvido para avaliar a qualidade de vida de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica, cujo nome original era *Additive Daily Activities Profile Test Quality of Life Scale – ADAPT quality of life scale* (DAUGHTON *et al.*, 1982). Mas, em 1988, Fix & Daughton realizaram algumas modificações estruturais no instrumento original, que passou a ser chamado Perfil de Atividade Humana (PAH) e utilizado na avaliação do nível de aptidão física e de atividade física de indivíduos saudáveis ou com alguma disfunção, na faixa etária de 20 a 79 anos (ANAND *et al.*, 2011; BILEK *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2008; TEIXEIRA-SALMELA *et al.*, 1999).

Pelo levantamento bibliográfico realizado até o momento, não foram encontrados registros de estudos que avaliaram a validade desse instrumento em predizer a capacidade funcional de pacientes com IC.

Recentemente o PAH foi adaptado transculturalmente para a população brasileira (SOUZA *et al.*, 2006), e pode ser aplicado em indivíduos com níveis funcionais diferentes, desde muito baixos (levantar e sentar de cadeira ou cama sem ajuda) até muito altos (correr 4,8 quilômetros em 30 minutos ou menos) (FIX & DAUGHTON, 1988).

Esse instrumento fornece vários índices de classificação do nível funcional e de atividade física (tabelas 1 a 4) e consta de 94 itens, cuja disposição é baseada na estimativa dos equivalentes metabólicos (MET - unidade que expressa o dispêndio energético), com cada questão representando uma atividade com o nível em MET ligeiramente maior que a anterior, variando entre 1 e 10 MET, aproximadamente. Para cada item há três respostas possíveis: “ainda faço”, “parei de fazer”, ou “nunca fiz”, sendo que esta última não é computada para a determinação do escore ou classificação.

Apesar de o PAH ter sido desenvolvido para ser auto-aplicado, porque requer uma compreensão de leitura equivalente a apenas quatro anos de estudo, Souza *et al.* (2006) sugerem que a versão brasileira seja aplicada por meio de entrevista, a fim de se evitar os erros de interpretação, devido à heterogeneidade do grau de instrução da nossa população. Nesta pesquisa, o questionário foi aplicado sob a forma de entrevista, em uma sala privativa, em todos os voluntários, independentemente do grau de instrução e do nível socioeconômico.

TABELA 1
Escores e classificações do Perfil de Atividade Humana – PAH

ESCORES E CLASSIFICAÇÕES	DESCRIÇÃO	INTERPRETAÇÃO
Escore máximo de atividade - EMA	Representa a atividade de maior VO_2 que o indivíduo ainda realiza.	Estimativa do maior gasto energético de um indivíduo.
Escore ajustado de atividade – EAA	É obtido subtraindo do EMA o número de atividades que ele parou de fazer, anteriores à última que ele ainda faz.	Estimativa do nível médio de energia gasta por um indivíduo.
Classificação da aptidão física e do nível de atividade física	É dada pelo EAA (tabela 2)	Fornece uma classificação da aptidão física e do nível de atividade física de um indivíduo, em função da idade e sexo.
Índice idade-atividade	É a estimativa da idade equivalente ao EMA alcançado pelo indivíduo (tabela 3).	Corresponde à idade na qual 50% dos adultos saudáveis de uma dada faixa etária e sexo superam aquele mesmo EMA.
Dispêndio energético potencial	É a medida do VO_2 médio, com base em estudos populacionais (tabela 4)	Proporciona uma estimativa do VO_2 esperado.
Dispêndio energético do estilo de vida	Reflete o VO_2 atual, estimado a partir do EAA (tabela 4)	Proporciona uma estimativa do VO_2 real.

LEGENDA: EMA: escore máximo de atividade; EAA: escore ajustado de atividade; VO_2 : consumo de oxigênio.

FONTE: adaptado de FIX & DAUGHTON (1988). p. 3.

TABELA 2
Classificação do nível de atividade física

CLASSIFICAÇÃO	PAH – EAA
Prejudicada	< 53
Moderadamente ativo	53-74
Ativo	>74

Fonte: FIX & DAUGHTON (1988). p. 8.

TABELA 3
Índice idade-atividade

MULHERES		HOMENS	
EMA	IDADE	EMA	IDADE
90	20	94	20
89	24	93	21
88	26	92	27,5
87	28	91	29
86	30	90	30
85	37,5	89	31,5
84	38	88	37,5
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
70	70+	74	70+

Fonte: FIX & DAUGHTON (1988). p. 8.

TABELA 4
Classificação da capacidade funcional, em função da idade, com base no $VO_2\text{max}$ e EAA

$VO_2\text{max}$ ($\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)				PAH – EAA		
IDADE	Classificação (AHA)			Classificação		
	BAIXA	RAZOÁVEL	MÉDIA E ACIMA	BAIXA	RAZOÁVEL	MÉDIA E ACIMA
20-29	< 24,5	24,5 - 30,0	> 30,0	< 63	68 - 78	> 78
30-39	< 21,5	21,5 - 27,0	> 27,0	< 58	58 - 74	> 74
40-49	< 18,5	18,5 - 23,0	> 23,0	< 52	52 - 65	> 65
50-59	< 16,5	16,5 - 20,0	> 20,0	< 48	48 - 59	> 59
60-69	< 14,5	14,5 - 17,0	> 17,0	< 46	46 - 54	> 54

LEGENDA: AHA: American Heart Association. $VO_2\text{max}$: consumo máximo de oxigênio; EAA: escore ajustado de atividade.

Fonte: FIX & DAUGHTON (1988). p. 8.

3.4.3 Teste de caminhada de seis minutos – TC6'

O teste de caminhada de seis minutos (TC6') foi originalmente desenvolvido para avaliar a capacidade funcional, verificar a evolução de tratamentos diversos e estabelecer o prognóstico de pacientes com doenças cardiorrespiratórias. Posteriormente, ele foi validado para diversas populações, incluindo pacientes com fibromialgia, acidente vascular encefálico, amputações, entre outros (CRAPO *et al.*, 2002).

O TC6' tem atraído a atenção de muitos profissionais da área da saúde, por ser de fácil aplicação, interpretação e não requerer equipamentos sofisticados. Sua aplicabilidade clínica é extensa, uma vez que o desempenho no teste mostrou ser um sensível indicador de intervenções terapêuticas, apresentou estreita relação com os instrumentos que avaliaram qualidade de vida e, embora com alguma controvérsia, também se relacionou com as atividades diárias (CRAPO *et al.*, 2002; GUIMARÃES *et al.*, 2002; LIPKIN *et al.*, 1986).

Os primeiros estudos do TC6' em pacientes com IC foram publicados há mais de 25 anos por Guyatt *et al.* (1985) e Lipkin *et al.* (1986) e levantaram as primeiras discussões sobre a reprodutibilidade do teste e a sua correlação com a capacidade de exercício máxima. Estudos posteriores mostraram que a distância no TC6' apresentou fraca ou nenhuma associação com os índices de função ventricular em repouso^{24, 46} e moderados níveis de correlação ($r=0,57$ a $0,68$) com o VO_{2pico} e com a classificação funcional da NYHA ($r=0,56$) (CARVALHO *et al.*, 2011; GUAZZI *et al.*, 2009; ROSTAGNO & GENSINI, 2008).

O valor prognóstico da distância do TC6' é outro fator controverso. Enquanto alguns estudos não encontraram nenhum valor prognóstico em relação ao desempenho no TC6' (GUAZZI *et al.*, 2009; PULZ *et al.*, 2008), pontos de corte variados, baseados na distância percorrida, vêm sendo propostos. Distâncias inferiores a 300m, 450 metros e até 490 metros seriam preditivas de mortalidade, tanto por causa cardiovascular quanto por todas as causas, além de hospitalizações (POLLENTIER *et al.*, 2010; ROSTAGNO *et al.*, 2003).

Nesta tese de doutorado, o TC6' foi utilizado como um instrumento de avaliação do desempenho funcional, além do TECP, e foi realizado aproximadamente entre uma semana e um mês após o TECP e foi seguida a padronização estabelecida pela ATS (2002), assim como a normatização para a população brasileira, proposta por Britto & Sousa (2006).

O teste consistiu em solicitar ao voluntário que caminhasse o mais depressa possível, sem correr, em um corredor com trinta metros de extensão, durante seis minutos (FIG. 4). Se absolutamente necessário, ele poderia reduzir a velocidade ou parar e, em seguida, retomar a caminhada a qualquer momento antes de completar os seis minutos. A cada minuto, frases de estímulo foram ditas, conforme a padronização já existente (CRAPO *et al.*, 2002; PIRES *et al.*, 2007).

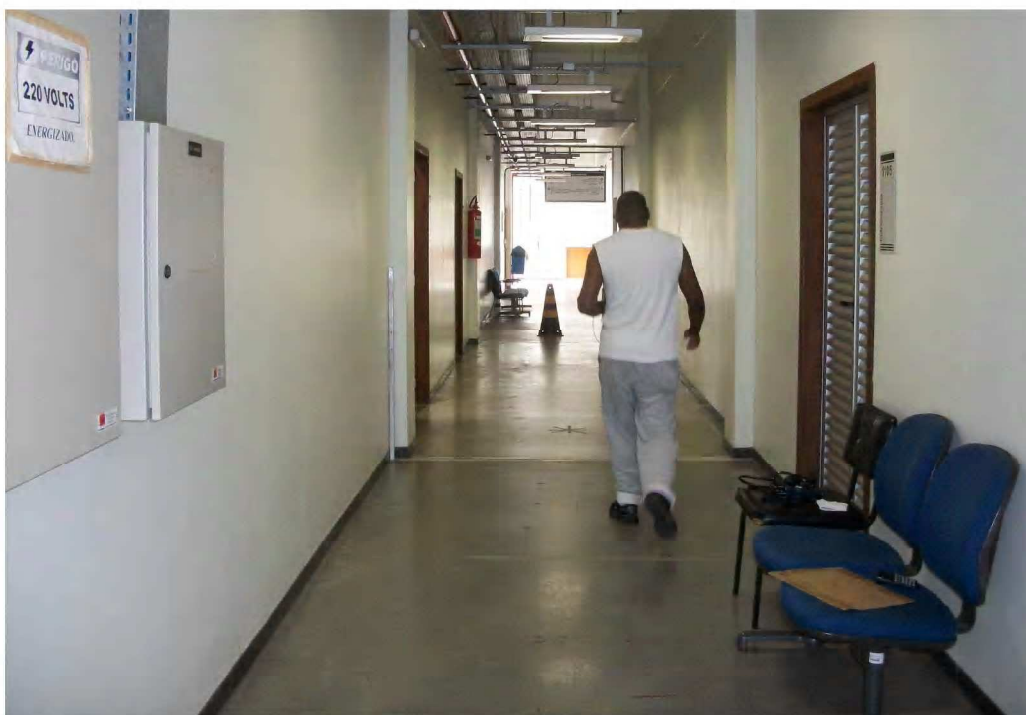


FIGURA 4 – Ilustração da realização de um teste de caminhada de seis minutos.

Antes de iniciar o teste, o voluntário permaneceu em repouso por 10 a 15 minutos e então foram aferidas a FC (cardiofrequencímetro *Polar® S810i*, Finlândia), a PA (esfigmomanômetro aneróide *Diasyst®*, Brasil e estetoscópio *Litmann® Classic II SE 3M®*, USA), a PSE e a SpO₂ (oxímetro de pulso *Mediad INC, model 300 series*, USA). Durante o teste, a FC e a SpO₂ foram monitoradas continuamente. Ao final,

novamente os dados vitais (FC, PA, SpO₂) foram aferidos e a PSE foi avaliada. Um segundo teste foi realizado após 30 minutos de recuperação passiva. Se a diferença entre os dois testes fosse superior a 10%, um terceiro teste seria aplicado. O resultado final foi baseado no teste de melhor desempenho.

3.5 Análises bioquímicas

Foram coletadas amostras de sangue na veia antecubital, em tubos a vácuo, sendo duas alíquotas de 4 mL cada uma, em heparina e outra em EDTA (*ethylenediamine tetraacetic acid* ou ácido etilenodiamino tetra-acético), para análise das enzimas antioxidantes SOD e CAT, em eritrócitos e de MDA em plasma. E uma terceira alíquota de 4,5 mL em citrato, para a determinação da IL-6 e do sTNFR1.

A coleta de sangue foi realizada sempre pela manhã, por um técnico de enfermagem, nos seguintes momentos: após 15 minutos de repouso (pré-exercício), com o voluntário em jejum de 10 a 12 horas; imediatamente após 30 minutos de exercício (pós-exercício) e uma hora após a interrupção do exercício (1h pós-exercício). Após a coleta pré-exercício, o indivíduo recebia um desjejum padronizado contendo pães do tipo bisnaguinhas, manteiga, queijo tipo mussarela, suco de uva industrializado, café e banana. Aguardava-se 30 minutos e então o exercício físico era iniciado.

Para separação do plasma e dos eritrócitos, os tubos foram centrifugados da seguinte maneira: citrato, a 1500 rpm, em uma centrífuga de bancada comum (Fanem®), por 15 minutos; EDTA e heparina foram levados a uma centrífuga refrigerada (*Sigma-Aldrich 2K15*, Alemanha) a 4°C e 3500 rpm, por 10 minutos. Imediatamente após a centrifugação, plasma e eritrócitos foram armazenados separadamente em microtubos de 1,5mL, estéreis e estocados em um freezer -80°C (ColdLab® CL374-80, Brasil), para posterior análise.

3.5.1 Inflamação

As concentrações de IL-6 e sTNFR1 foram avaliadas de acordo com as especificações dos kits comerciais *Quantikine® high sensitivity human* para a IL-6 e *Quantikine® Human sTNF RI/TNFRSF1A Immunoassay* para o sTNFR1, ambos da *R&D Systems®, USA*.

As análises foram realizadas no Laboratório de Dor e Inflamação da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais (Ladire-UFMG), sob a coordenação da Prof^a Dr^a. Leani Souza Máximo Pereira.

3.5.2 Estresse oxidativo

As concentrações de MDA, CAT e SOD foram avaliadas em duplicatas, pelos métodos descritos abaixo.

A formação de MDA, indicador da peroxidação lipídica, foi avaliada por meio da detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS; *thiobarbituric acid reactive substances*), de acordo com o método descrito por Wallin et al., (1993), adaptado por Rabêlo (2004). Os dados obtidos foram normalizados pela concentração de proteínas plasmáticas (nmol/mg proteína).

Para mensurar a atividade das enzimas antioxidantes (CAT e SOD) no componente eritrocitário, realizou-se inicialmente a hemólise dos eritrócitos e utilizou-se o sobrenadante para a realização das dosagens. A CAT foi determinada pela taxa de decaimento de uma reação contendo tampão fosfato e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cuja leitura da absorbância foi feita em um espectrofotômetro¹²⁸ (*Multiskan® GO Microplate Spectrophotometer; Thermo Scientific®*). Os valores de CAT foram normalizados pela concentração de hemoglobina (Hb) e expressos $\mu M \cdot min \cdot mL^{-1} / mM$ Hb. Para mensuração da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi utilizado o *kit* comercial (*Fluka® Sigma-Aldrich, Alemanha*). A normalização dos dados, assim como a catalase, foi realizada em nm e os valores são expressos em unidades internacionais por mM de hemoglobina (Hb) (UI/mM Hb).

As análises referentes ao estresse oxidativo foram feitas no Laboratório de Reatividade Cardiovascular (LRC) da Universidade Federal de Alagoas/AL, sob coordenação da Prof^a. Dr^a. Luiza Antas Rabêlo.

3.6 Análise estatística

Estudo 1 – *“Efeitos da intensidade e da duração do exercício agudo sobre os marcadores inflamatórios e balanço redox, em indivíduos com insuficiência cardíaca”*

A distribuição normal das variáveis contínuas foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Estatísticas não-paramétricas tiveram que ser utilizadas porque as variáveis bioquímicas não apresentaram distribuição normal.

As diferenças intra-exercício submáximo (pré *versus* pós *versus* 1h após) foram avaliadas pelo teste de Friedman, com *post hoc* de Wilcoxon. No entanto, para as análises entre os exercícios submáximos, foram calculadas as variações (delta) dos momentos pré para o pós-exercício (delta pós-pré) e do pós-exercício para 1 hora após (delta 1h-pós). Em seguida, esses valores em delta, foram avaliados pelo teste de Friedman, com *post hoc* de Wilcoxon.

Foi considerado estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$. As variáveis bioquímicas foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil e as outras como média $\pm$ desvio-padrão, com intervalo de confiança de 95% para a média.

Estudo 2 – *“O questionário Perfil de Atividade Humana é válido para estimar a capacidade funcional de indivíduos com insuficiência cardíaca?”*

O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. As variáveis contínuas foram apresentadas como média $\pm$ desvio-padrão e intervalo de confiança de 95% para média; as categóricas em valores percentuais ou com o número de sujeitos. Para avaliar a distribuição normal dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk.

A avaliação da concordância entre o VO_{2pico} medido no TECP e o estimado no questionário PAH foi analisada pelo método de Bland-Altman que consiste em um procedimento estatístico e gráfico usado para comparação de dois métodos de mensuração de variáveis clínicas. Por esse método calcula-se o viés (diferença entre as medidas obtidas pelos dois métodos), a média e o DP dessas diferenças e os limites superior (LSC) e inferior de concordância (LIC), obtidos pela equação: viés $\pm$ 1,96 DP. A análise é feita a partir do exame visual do gráfico, observando-se a dispersão dos dados entre os LSC e LIC e o quanto eles estão próximos do zero (BLAND & ALTMAN, 2009).

Foi realizada também a análise de regressão linear para verificar a associação entre a distância do TC6' e o VO_{2pico} obtido no PAH e no TECP. Comparações entre os valores de VO_{2pico} do TECP e do PAH foram feitas pelo teste *T-Student* pareado; e entre as classes funcionais da NYHA, pela análise de variância de um fator (*one-way ANOVA*) e *post hoc* pelo teste *T-Student* independente.

As análises estatísticas dos dois artigos foram realizadas no programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e as discussões, relativos a este estudo, estão descritos em dois artigos referidos abaixo.

4.1 Artigo 1

Efeitos da intensidade e da duração do exercício agudo sobre os marcadores inflamatórios e balanço redox, em indivíduos com insuficiência cardíaca. Este artigo será enviado para a revista *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*.

4.2 Artigo 2

O questionário Perfil de Atividade Humana é válido para estimar a capacidade funcional de indivíduos com insuficiência cardíaca? Este artigo será enviado para a Revista Brasileira de Fisioterapia.

4.1 - Artigo 1

EFFECTS OF THE INTENSITY AND DURATION OF ACUTE PHYSICAL EXERCISE ON THE INFLAMMATORY MARKERS AND REDOX BALANCE IN INDIVIDUALS WITH HEART FAILURE

ABSTRACT

Objective: to compare the effects of three exercises of different intensities and durations on the inflammatory markers sTNFR1 (soluble tumor necrosis factor receptor) and IL-6 (interleukin-6) and on the oxidative stress (malondialdehyde- *MDA* and the activity of the antioxidant enzymes: catalase – CAT and superoxide dismutase – *SOD*) in individuals with chronic heart failure (HF).

Study design: Eighteen patients with HF (45.4 ± 11.3 years old, left ventricular ejection fraction: $36.7 \pm 10.3\%$), performed three exercise sessions: M30 – moderate intensity for 30 minutes; L30 – mild intensity for 30 minutes and L45 – mild intensity for 45 minutes (M30 isocaloric). Blood analysis was performed before the exercise (baseline), immediately after (after) and 1 hour after the end of each session (after 1h), in order to determine sTNFR1, IL-6, MDA, CAT and SOD.

Results: In M30 there was an increase of sTNFR1 and MDA immediately after exercise, followed by increase of IL-6 and CAT after 1h. In L30, only an increase of IL-6 after exercise was observed and no significant changes on the sTNFR1, MDA, CAT and SOD levels. As for exercise L45, there was an increase of MDA after exercise and of CAT after 1h, similar to what occurred for M30.

Conclusions: The exercise intensity was a more determining factor for the physiological adjustments than the exercise duration. The moderate intensity exercise for 30 minutes (M30) promoted a larger stressor stimulus both pro-inflammatory and pro-oxidative, when compared to exercises L30 and L45. In response to this stressor stimulus, after 1h there was an anti-inflammatory action of IL-6 inhibiting the expression of TNF- α , as well as the activation of the enzyme antioxidant system, expressed by the CAT increase.

KEY WORDS: heart failure, inflammation; oxidative stress, exercise

INTRODUCTION

Heart failure (HF) is a progressive syndrome, characterized by exercise intolerance, dyspnea, fatigue and decrease in quality of life, resulting from the heart's inability to maintain a cardiac output appropriate to the tissue demands ^(1,2). It's a relatively common clinical condition and is the final stage of several forms of cardiovascular diseases⁽³⁾.

The deteriorated heart function, *per se*, is able to modulate the inflammatory response and the production of reactive oxygen species (ROS). Furthermore, the production of free radicals is a powerful stimulus for the production of pro-inflammatory cytokines, such as the tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), mediated by the nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) ⁽⁴⁻⁶⁾. On the other hand, the inflammation is also able to provoke oxidative stress. Thus, oxidative stress and inflammation are involved in a cycle that is auto-perpetuated ⁽⁷⁾.

Although acute exercise is apparently pro-inflammatory and increases oxidative stress, it can promote the stress stimulus necessary for the training chronic adaptations which are beneficent⁽⁸⁾, including reduction in the inflammatory response^(9, 10) and in the oxidative

stress, by enhancing the antioxidant system ^(11, 12), within other benefits. However, these responses, mediated by physical exercise, seem to be dependent on several factors, such as intensity, duration and muscle mass involved ⁽¹³⁾. Thus, the objective of this study was to compare the effects of three exercise situations, of different intensities and durations, on the inflammatory markers, mainly sTNFR1 and IL-6, and on oxidative stress, assessed by the plasma concentrations of malondialdehyde (*MDA*), activity of the antioxidant enzymes *catalase (CAT)* and *superoxide dismutase (SOD)* in individuals with HF.

METHODS

Sample

Eighteen individuals of both sexes, with clinical diagnosis of HF, originated from the Heart Failure Ambulatory of the University Hospital, aged between 28 and 59 years, belonging to the I to III NYHA functional classes, participated in the study. The inclusion criteria were: present predominantly systolic HF (left ventricular ejection fraction – LVEF>50%), be clinically stable for at least 2 months prior to the study and in optimized pharmacological treatment. Exclusion criteria: obesity (body mass index – BMI ≥ 30 kg/m²), use of anti-inflammatory agents or vitamins A, C or E; present other inflammatory diseases, kidney failure, orthopedic or neurologic dysfunctions which limit physical exercise; history of pulmonary disease, unstable angina, uncontrolled arrhythmias or peripheral arterial disease; regular practice of physical exercises and inability to reach a respiratory exchange ratio – R ≥ 1.0 during the maximal cardiopulmonary exercise testing (CPET).

All the experimental procedures which involved blood samples were performed in the morning.

This study was approved by the Ethics Committee of the University of the Institution (protocol number 050/09). Before the participation, the volunteers that agreed to participate in the research signed an informed written consent form, which contained information about all the procedures that would be performed, the potential risks and benefits, as well as their right to abandon the study at any time.

Procedures

On the first experimental day, the volunteers attended the laboratory for an initial assessment that was composed by anamnesis, anthropometric assessment (weight, height and body mass index - BMI) and the performance of a maximal cardiopulmonary exercise testing, described below.

Cardiopulmonary exercise testing - CPET

A maximal CPET was performed on an electronic treadmill (*Millenium Classic CI*[®], *Inbramed/Inbrasport*, Brazil), with the analysis of the expired gases, by the *breath-by-breath* method (*Medical Graphics*[®] *CPX Ultima*, Miami, FL, USA); slope protocol, with velocity and/or slope increases every 10 seconds until fatigue. None of the tests needed to be interrupted by the researchers.

Arterial blood pressure was measured by the auscultatory method (aneroid sphygmomanometer, *Diasyst*[®], Brazil and stethoscope, *Littmann Classic II S.E 3M*[®], USA) and the subjective effort perception (SEP) by the Borg scale ⁽¹⁴⁾ from 0 to 10. The peripheral oxygen saturation - SpO₂ (pulse oximeter, *Mediad INC.*, Model 300 Series, California, USA) and the electrocardiogram (*Cardioperfect*, *Welch Allyn*[®], USA) were continuously monitored.

The environmental conditions for the performance of the CPET were maintained between 18 and 22°C, the relative humidity of the air varied between 40 to 60% and the barometric pressure was measured, in order to guarantee gas measurement in standardized conditions^(15, 16). The volunteers were oriented to maintain their usual medication, refrain from smoking and food/drinks with caffeine for 3 hours and avoid physical exercise 12 hours before the test⁽¹⁵⁾.

Submaximal exercises

Within a maximal period of two weeks from the initial assessment, the volunteers returned to the laboratory between 7 and 10 a.m., with over-night food abstinence of 9 to 12 hours. They were instructed not to perform any physical exercises 24 hours before the three days of submaximal tests and to complete a detailed food diary.

After a ten-minute rest, the first blood sample collection was performed (pre-exercise). Afterwards, the volunteer received a standard breakfast, with bread, butter, mozzarella cheese, industrialized grape juice, coffee and banana. This breakfast was *ad libitum*, however, a report was made in order to guarantee that during the other test days the volume and the type of food consumed were the same.

In a randomized order and separated by 3 to 7 days interval, the volunteers performed three aerobic submaximal and continuous exercises: exercise M30– a moderate intensity walk, with heart frequency correspondent to 60% of the VO_2peak , on an electronic treadmill, for 30 minutes; exercise L30– a low intensity walk, with heart frequency correspondent to 40% of the VO_2peak , on an electronic treadmill, for 30 minutes; exercise L45 - a low intensity walk, with heart frequency correspondent to 40% of the VO_2peak , on an electronic treadmill, for 45 minutes (isocaloric to exercise M30). On all three situations, the volunteers performed active

warming and cooling phases of three minutes each, in the intensity correspondent to the initial velocity and slope of the CPET, as well as the time specified for each exercise.

Besides the pre-exercise blood sample collection (BASELINE), two other samples were collected: at the end of the exercise (AFTER) and one hour after the end of the session (1H AFTER), on all the experimental situations (L30, L45 and M30).

Food report

All the subjects were instructed to maintain their usual feeding habits during the study and to complete a food diary with the description of the food that was consumed, the amount and the time, three days before the first submaximal exercise. They received a copy of this food report and were oriented to repeat the same alimentation on the other two days.

Blood collection and analysis

Approximately 10 mL of blood were obtained from each puncture (BASELINE, AFTER and 1H AFTER), on the three experimental situations (L30, M30 and L45), by a nurse auxiliary, via antecubital vein, in 4 mL tubes with EDTA (*ethylenediamine tetraacetic acid*) and 4.5 mL with citrate.

In order to separate plasma and the erythrocytes, the tubes were centrifuged immediately after each blood sample collection. The ones with citrate were centrifuged at 1500 rotations per minute (Fanem®, Brazil), during 15 minutes and those with EDTA were taken to a refrigerated centrifuge (*Sigma-Aldrich 2K15*, Germany) at 4°C, 3500 rpm, for 10 minutes. Immediately after the centrifugation, in a laminar flow hood, plasma and erythrocytes were separated in 1.5 mL sterile microtubes (*Axygen®*, USA) and placed in a freezer at -80°C (*ColdLab® CL374-80*, Brazil).

Inflammation

Concentrations of IL-6 and sTNFR1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's specifications (*Quantikine® high sensitivity human for IL-6 and Quantikine® Human sTNF RI/TNFRSF1A Immunoassay for sTNFR1, both R&D Systems®, USA*).

Oxidative stress

The concentrations of MDA, CAT and SOD were assessed in duplicates, by the methods described below.

The formation of MDA, an indicator of lipid peroxidation, was assessed by the detection of substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS; *thiobarbituric acid reactive substances*), according to the method described by Wallin et al.⁽¹⁷⁾, adapted by Rabêlo⁽¹⁸⁾. In summary, 100µL of plasma were used in plastic tubes. Afterwards, this material was submitted to the reaction with 1000µL of the thiobarbituric acid solution (TBA, 1.3 %; p/v; *Sigma®*, USA). A standard curve was prepared with 190µL of different concentrations of *1,1,3,3-tetra-metoxi-propane* (0-7.5 nmol/L; *Sigma®*, USA) and 10µL of butylated hydroxytoluene (1 mmol/L; *Sigma®*, USA). This material was heated to 100°C for 60 minutes and cooled to 4°C for 10 minutes for the end of the reaction. Then, it was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes at room temperature. The absorbance reading was performed at a microplate reader (Multiskan® GO Microplate Spectrophotometer; *Thermo Scientific®*), with a wave length of 532 nm. The data obtained were normalized by the plasmatic protein concentration (nmol/mg protein)⁽¹⁹⁾.

In order to measure the activity of the antioxidant enzymes (CAT and SOD) on the erythrocyte component, firstly the hemolysis of the erythrocytes was performed. For this procedure, 100µL of the erythrocytes were placed in 400µL of cold Milli-Q water. Then, the

solution was centrifuged at 10,000 rpm for 15 minutes, at 4°C, in a refrigerated centrifuge. The supernatant was used to perform the doses.

The CAT activity was determined by the decrease index of a reaction containing phosphate and hydrogen peroxide (H₂O₂) tampon; the absorbance reading was performed in a spectrophotometer Multiskan® GO *Microplate Spectrophotometer*; *Thermo Scientific®*) (XU *et al.*, 2008). The CAT values were normalized by the hemoglobin (Hb) concentration and expressed in $\mu\text{M}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mM Hb}$.

In order to measure the activity of the superoxide dismutase (SOD) enzyme, the commercial kit (*Fluka® Sigma-Aldrich*, Germany) was used. The method is based on the use of a hydro-soluble salt, the WST-1 (2-(4- Iodophenyl)-3-(4- nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium, monosodic salt), which is reduced by the superoxide radical anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$). The product of this reaction is the “formazan” chromogenous. The reduction index is linearly related to the activity of the xanthine oxidase (XO) enzyme, which is inhibited by the SOD. Thus, its activity is determined as a percentage of inhibition of the XO by the inhibition of the SOD. For the essay, 20 μL of the erythrocytic lyses were diluted in PBS in the proportion of 1:200 and, afterwards, the manufacturer’s instructions were followed. The absorbance reading was performed in the 450 nm wave length Multiskan® GO *Microplate Spectrophotometer*; *Thermo Scientific®*). The data normalization was performed according to the description for the catalysis, in nm and the values are expressed in international units per mM of hemoglobin (Hb) (UI/mM Hb).

Statistical analysis

The normality of the continuous variables was assessed by the Shapiro Wilk test. Nonparametric statistics was used because the variables were not normally distributed. The

changes (delta) from after exercise to baseline (delta after-baseline) and 1h after the exercise to after exercise (delta 1h after-after) were calculated and the differences between the three submaximal exercises (L30, M30 and L45) were assessed by Friedman's test for delta values (in comparisons 3 x 2) followed by Wilcoxon *post hoc* test. The differences intra submaximal exercises (baseline, after exercise, and 1h after) in the plasma were assessed by Friedman's and Wilcoxon's tests. A p value of < 0.05 was considered statistically significant. For the physical and clinical characteristics, the proportion of patients or mean and standard deviation (SD) was given. Other variables were given as median values and interquartile range. The SPSS for Windows version 15.0 software (SPSS, Chicago, Illinois, USA) was used.

RESULTS

Table 1 shows the physical and clinical characteristics of the volunteers who participated in the study (n=18).

Inflammation

As show in Figure 1, the delta comparisons (after exercise-baseline and 1h after-after) between exercises M30, L30 and L45, showed an increase of IL-6 after exercise-baseline L30 versus M30 and L45, which reduced ($p=0.016$ and $p= 0.022$, respectively). However, for situation delta 1h after-after, there was a reduction of IL-6 in L30 when compared to M30, which increased ($p=0.012$) and a tendency to be different from L45 ($p= 0.053$). Between situations M30 *versus* L45, there were no significant differences ($p>0.05$) (figure 1). The sTNFR1 concentrations after exercise-baseline for M30 increased in relation to L30 and L45 ($p=0.035$ and $p= 0.006$, respectively) and in situation 1h after-after M30 these values were

reduced in relation to L30 ($p=0.043$) and L45 ($p=0.007$). Between L30 and L45 there were no significant differences ($p>0.05$) (figure 2).

The intra-submaximal exercise analysis (absolute data) showed that IL-6 increased after exercise L30 ($p=0.014$) and returned to baseline levels 1h after. In M30 and L45, no significant differences were observed ($p>0.05$). As for the sTNFR1 levels, they increased after exercise M30 ($p=0.039$) and also returned to baseline levels 1h after (table 2).

Oxidative stress

The MDA alterations 1h after-exercise M30 were larger when compared to L45 ($p<0.0001$) and to L30 ($p=0.025$) and also larger 1h after-exercise L45 versus L30 ($p=0.008$) (figure 3). Also, CAT 1h after-exercise M30 increased in relation to L45 ($p=0.001$), but wasn't different from L30 ($p<0.05$) (figure 4). SOD did not present a statistically significant alteration between exercises L30, M30 and L45 (figure 5).

Table 2 shows absolute values and the results of the comparisons between intra-exercise MDA, CAT and SOD. The MDA levels in M30 increased after exercise ($p=0.001$) and 1h after ($p=0.004$) and also increased after exercise L45 ($p=0.010$). CAT 1h after significantly increased in M30 ($p=0.049$) and reduced in L45 ($p=0.043$).

DISCUSSION

The moderate intensity exercise for 30 minutes (M30) promoted a larger stressor stimulus both pro-inflammatory and pro-oxidative, when compared to exercises L30 and L45. This could be evidenced by the increase on the sTNFR1 and MDA after exercise M30 levels. In response to this stressor stimulus, after 1h there was an increase of IL-6 and CAT and a return

to the baseline levels of sTNFR1, which demonstrates the anti-inflammatory action of IL-6 inhibiting the expression of TNF- α , as well as the activation of the enzyme antioxidant system, expressed by the CAT increase.

Some studies found an anti-inflammatory response right after one single exercise session, with an increase of the plasmatic IL-6 without an increase of TNF- α ,⁽²⁰⁻²²⁾, whereas others found results similar to ours, but after maximal exercises in patients with HF⁽²³⁾. The mechanisms which explain the increase of exercise induced pro-inflammatory cytokines, in patients with HF, are not well established in the literature and some hypothesis have been raised as, for instance, the adrenergic stimulation and the peripheral tissue hypoperfusion^(4, 5).

TNF- α and IL-6 are premature inflammatory markers since TNF- α induces the IL-6 production with a lag time^(22, 24). We hypothesized that the increase of IL-6 after exercise M30 was mediated by the production of reactive oxygen peroxide, free radicals that stimulate the TNF- α response to this stressor stimulus, 1h after exercise. The antioxidant systems were activated, resulting in a decrease of TNF- α and IL-6 levels.

ERROR: ioerror
OFFENDING COMMAND: image

STACK: