

HENRIQUE SILVEIRA COSTA

**AVALIAÇÃO FUNCIONAL PELO TESTE DE CAMINHADA DE  
SEIS MINUTOS, RESPOSTA AGUDA DO BDNF AO ESFORÇO E  
SEU VALOR PROGNÓSTICO NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA.**

BELO HORIZONTE

2016

HENRIQUE SILVEIRA COSTA

**AVALIAÇÃO FUNCIONAL PELO TESTE DE CAMINHADA DE SEIS MINUTOS, RESPOSTA AGUDA DO BDNF AO ESFORÇO E SEU VALOR PROGNÓSTICO NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de doutor junto ao referido Programa.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia Maria Oliveira Lima

BELO HORIZONTE

FACULDADE DE MEDICINA/UFMG

2016

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

REITOR: Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez

VICE-REITORA: Profa. Dra. Sandra Regina Goulart Almeida

PRÓ-REITORA DE PÓS-GRADUAÇÃO: Profa. Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira

## **FACULDADE DE MEDICINA**

DIRETOR: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

VICE-DIRETOR: Prof. Dr. Humberto José Alves

COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

## **CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE Área de Concentração: Infectologia e Medicina Tropical**

COORDENADOR: Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferraz Coelho

SUBCOORDENADOR: Prof. Dr. Antônio Luiz Pinheiro

## **MEMBROS DO COLEGIADO**

Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Profa. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho

Prof Unaí Tupinambás

Pollyana Anício Magalhães Gontijo (Representante Discente)

*À minha avó, meu porto seguro;*

*Por ter me acordado às 06:20h todos os dias durante 16 anos;  
Pelo apoio incondicional em todos os momentos da pós-graduação;  
Por me mostrar que Deus e ciência caminham lado a lado.*

*A você dedico este trabalho.  
Para você guardei o maior amor do mundo.*

## AGRADECIMENTOS

A elaboração de uma tese de doutorado é um produto coletivo. Aos colaboradores e incentivadores registro minha gratidão, especialmente:

A Deus, fonte de paz, inspiração e sabedoria.

Ao Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha, minha eterna gratidão pelo suporte, amizade e disponibilidade nesses anos de pós-graduação.

À Profa. Dra. Márcia Maria Oliveira Lima, sempre tão presente desde o início da graduação. Sua amizade e incentivo fazem essa jornada acadêmica ser leve e prazerosa.

À Profa. Dra. Maria do Carmo Pereira Nunes, pelo carinho, pela ajuda inestimável em todas as etapas do estudo e pelo entusiasmo contagiante.

À minha família em especial à minha avó, minha mãe e meus irmãos, pessoas fundamentais em toda a minha vida.

Aos parceiros da pós-graduação, em especial ao Giovane Sousa, Nathália Sernizon, Aline Souza e Sanny Faria. A amizade e a parceria de vocês foram fundamentais no desenvolvimento desta tese. À Susan Lage, Thaianne Sérgio e aos novos amigos da FUNCESI pelo grande apoio na finalização desse trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical, em especial à Jussara, e ao Hospital das Clínicas da UFMG, pela oportunidade. e aos pacientes, pela disposição em participar deste trabalho.

Aos amigos Bernardo Ulhoa, Fabiana Quirino, Tahiana Saúde e Laura Sarti, que me incentivaram e tanto me ouviram. A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

*“Sem ciência, o amor é impotente.  
Sem amor, a ciência é destrutiva.”*

*(Bertrand Russell)*

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1 Insuficiência cardíaca</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2 Doença de Chagas</b> .....	<b>20</b>
2.2.1 <u>Cardiopatía chagásica</u> .....	22
<b>2.3 Capacidade funcional</b> .....	<b>24</b>
2.3.1 <u>Teste de Esforço Cardiopulmonar</u> .....	27
2.3.2 <u>Teste de Caminhada de Seis Minutos</u> .....	29
<b>2.4 Fator neurotrófico derivado do cérebro</b> .....	<b>33</b>
2.4.1 <u>Relação entre o exercício e o BDNF</u> .....	34
2.4.2 <u>Valor prognóstico do BDNF</u> .....	35
2.4.3 <u>O BDNF na doença de Chagas</u> .....	36
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>39</b>
<b>4.1 Aspectos éticos</b> .....	<b>39</b>
<b>4.2 Divisão dos estudos</b> .....	<b>39</b>
<b>4.3 Artigo I</b> – “ <i>Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing</i> ” .....	41
<b>4.4 Artigo II</b> – “ <i>Prediction of peak oxygen uptake in patients with Chagas heart disease: value of the Six-minute Walk Test</i> ” .....	43

<b>4.5 Artigo III – “Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”</b> .....	<b>45</b>
<b>4.6 Artigo IV – “Prognostic value and factors related to serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”</b> .....	<b>47</b>
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>49</b>
<b>5.1 Artigo I</b> .....	<b>49</b>
<b>5.2 Artigo II</b> .....	<b>58</b>
<b>5.3 Artigo III</b> .....	<b>74</b>
<b>5.4 Artigo IV</b> .....	<b>82</b>
<b>6 RESUMO DOS RESULTADOS</b> .....	<b>105</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>108</b>
<b>8. PERSPECTIVAS</b> .....	<b>109</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>110</b>
<b>ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG</b> .....	<b>120</b>
<b>ANEXO B – <i>International Physical Activity Questionnaire</i></b> .....	<b>123</b>
<b>ANEXO C – <i>Short-form of Health Survey (SF-36)</i></b> .....	<b>125</b>
<b>ANEXO D – Ata da defesa</b> .....	<b>128</b>
<b>ANEXO E – Folha de aprovação da defesa</b> .....	<b>129</b>
<b>APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b> .....	<b>130</b>

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### TESE:

Figura 1 - Fluxograma de investigação clínica da insuficiência cardíaca .....	19
Quadro 1 - Classe funcional da <i>New York Heart Association</i> (NYHA) .....	20
Quadro 2 - Principais vantagens e desvantagens dos três principais modelos de teste de esforço realizados em pacientes com insuficiência cardíaca. ....	25
Figura 2 - Manifestações anormais durante o esforço responsáveis pela redução da capacidade funcional na insuficiência cardíaca.....	26
Tabela 1 - Resumo dos estudos encontrados na literatura pesquisada sobre a aplicabilidade do TC6' em pacientes com doença de Chagas .....	31

### ARTIGO I:

Table 1 - Characteristics of the CHD patients stratified according to left ventricular systolic function .....	52
Figure 1 - Correlation between the distance walked in 6MWT and peak oxygen uptake (peakVO <sub>2</sub> ) (A) in the dilated group and (B) in the non-dilated group .....	53
Figure 2 - Receiver-operating characteristic (ROC) curve representing the accuracy of distance walked in 6MWT to identify a VO <sub>2peak</sub> of, at least, 20 mL.kg.min.....	54

### ARTIGO II:

Table 1 - Characteristics of the sample (n=81).....	64
Table 2 - Univariate predictors of VO <sub>2peak</sub> in CHD patients (n=81). ....	65
Table 3 - Multivariate linear regression analysis of factors that may contribute of VO <sub>2peak</sub> .....	65
Figure 1 - Correlation analysis between observed and predicted VO <sub>2peak</sub> by the model. ....	66

Figure 2 - Bland-Altman diagram showing the agreement between observed and predicted  $VO_{2peak}$ ; mean  $-0.64 \pm 4.68$  mL.kg.min). ..... 67

**ARTIGO III:**

Table 1 - Clinical data from CHD patients stratified according to left ventricular systolic function ..... 77

Figure 1 - Changes in serum BDNF before (white box) and after (gray box) acute exercise A) Non-dilated and dilated group; B) chagasic patients who underwent Cardiopulmonary Exercise Test (CPET) at moderate and high intensity. \*p <0.05; \*\*p <0.001. .... 78

**ARTIGO IV:**

Figure 1 - Serum BDNF levels in the overall study population (n=75). ..... 90

Table 1 - Baseline characteristics of the sample ..... 91

Table 2 - Factors associated with serum BDNF levels (logBDNF) in overall population with CHD..... 92

Table 3 - Differences in serum BDNF, demographic data, functional status, echocardiographic parameters and HRQoL between CHD patients with and without adverse cardiovascular events. .... 93

Figure 2 - Accuracy of serum BDNF levels in predicting cardiac sudden death, cardiac transplantation or cerebrovascular ischemic events evaluated by the ROC curve in patients with CHD ..... 94

Figure 3 - Kaplan-Meier curve for serum BDNF levels. The cutoff level of the serum BDNF concentration (5.92 ng/mL) was determined by the receiver operating characteristic curve ..... 95

Table 4 - Univariate Cox analysis for cardiovascular adverse events at follow-up ..... 96

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BNP	Peptídeo natriurético do tipo B
CCh	Cardiopatia chagásica
CF	Capacidade funcional
CIF	Classificação Internacional de Funcionalidade
CTR-DIP	Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias
DCh	Doença de Chagas
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
HR	<i>Hazard ratio</i>
IC	Insuficiência cardíaca
IC 95%	Intervalo de confiança no nível 95%
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i>
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
SF-36	<i>Short-form of Health Survey</i>
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TC6'	Teste de Caminhada de Seis Minutos
TECP	Teste de Esforço Cardiopulmonar
VE/VCO <sub>2</sub> <i>slope</i>	Inclinação do equivalente ventilatório para o dióxido de carbono
VO <sub>2</sub>	Consumo de oxigênio
VO <sub>2</sub> máx	Consumo máximo de oxigênio
VO <sub>2</sub> pico	Pico do consumo de oxigênio

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Esta tese de doutorado, inserida na linha de pesquisa em doença de Chagas, teve como objetivos verificar, em pacientes com cardiopatia chagásica: 1) a correlação entre a distância caminhada no Teste de Caminhada de Seis Minutos e o pico do consumo de oxigênio; 2) o melhor modelo de predição do pico do consumo de oxigênio utilizando o Teste de Caminhada de Seis Minutos e variáveis clínicas de fácil mensuração; 3) os efeitos agudos do exercício sobre o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) sérico e 4) os preditores da concentração sérica do BDNF, assim como seu valor prognóstico.

A escolha do tema partiu de dois aspectos distintos. O primeiro refere-se à avaliação funcional de pacientes com cardiopatia chagásica. Por tratar-se de uma doença endêmica em regiões com recursos escassos na saúde, é importante verificar a eficácia de métodos alternativos simples e pouco onerosos para avaliação e acompanhamento desses pacientes. Tal fato é ainda mais relevante quando levamos em conta o elevado custo financeiro na realização do Teste de Esforço Cardiopulmonar, padrão-ouro na avaliação da capacidade funcional. Mesmo o teste ergométrico convencional, mais disponível e menos oneroso, pode ser de difícil acesso em regiões endêmicas e para pacientes com poucos recursos.

Na realização do meu mestrado, nosso grupo verificou, pela primeira vez, a correlação entre a distância caminhada no teste de campo *Incremental Shuttle Walk Test* com o pico do consumo de oxigênio, medido de forma direta, em pacientes com cardiopatia chagásica. Entretanto, a correlação da distância percorrida no Teste de Caminhada de Seis Minutos, teste de campo mais amplamente utilizado na avaliação da capacidade funcional, com o pico do consumo de oxigênio

permanecia desconhecida nessa população. Além disso, por ser um teste simples e financeiramente acessível, enfatizamos a importância da elaboração de um modelo de regressão que pudesse prever o pico do consumo de oxigênio a partir do Teste de Caminhada de Seis Minutos e parâmetros clínicos usualmente mensurados, como o índice de massa corporal e classe funcional da *New York Heart Association* (NYHA). Utilizando tal modelo, o pico do consumo de oxigênio poderia ser estimado até mesmo na ausência do teste ergométrico.

O segundo aspecto refere-se às alterações agudas no comportamento do BDNF após esforço em pacientes com cardiopatia chagásica. A ideia da pesquisa surgiu dos novos achados clínicos envolvendo o BDNF, tendo sido apontado como um novo marcador de reparação neural e estar associado a eventos metabólicos. Assim, objetivou-se verificar o seu comportamento após uma única sessão de exercício em pacientes com cardiopatia chagásica, uma vez que seus valores em repouso e após 12 semanas de treinamento físico já tinham sido previamente investigados. Além disso, também foram determinados os preditores funcionais e ecocardiográficos do BDNF sérico e o seu valor prognóstico em pacientes com cardiopatia chagásica.

Durante os três anos de doutoramento foram publicados dois artigos (*“Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”* e *“Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing”*), dois artigos escritos e ainda não enviados para publicação (*“Prediction of peak oxygen uptake in patients with Chagas heart disease: value of the Six-minute Walk Test”* e *“Prognostic value and factors related to serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”*) e apresentados quatro temas livres em congressos internacionais

(EuroPREvent 2014, ESC Congress 2014, EuroEcho-Imaging 2014 e EuroPREvent 2015) e três em congressos nacionais (XXI Congresso Nacional do Departamento de ergometria, exercício, cardiologia nuclear e reabilitação cardiovascular e 25º Congresso da Sociedade Mineira de Cardiologia). O trabalho "*Prediction of peak oxygen uptake in patients with Chagas heart disease: value of the Six-minute Walk Test*" recebeu, em 2015, menção honrosa no Encontro de Pesquisa de Infectologia e Medicina Tropical da UFMG.

## RESUMO

O comprometimento funcional cardíaco pode ocorrer em graus variados na cardiopatia chagásica (CCh). Para avaliação da capacidade funcional (CF) desses pacientes, métodos simples e de baixo custo operacional como o Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6') são preconizados uma vez que o Teste de Esforço Cardiorpulmonar (TECP), padrão-ouro nesta avaliação, é oneroso e de difícil realização em regiões com poucos recursos financeiros e tecnológicos. Estudos prévios relataram que a concentração do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) encontra-se aumentada na CCh. Esse aumento parece ter associação positiva à CF e a concentração no BDNF pode se alterar em resposta ao exercício físico nesse grupo. Diante disso, os objetivos desta tese foram, em quatro estudos distintos, verificar na cardiopatia chagásica: 1) a possível correlação entre a distância caminhada no TC6' com o  $VO_{2\text{pico}}$  e inclinação do equivalente ventilatório para o dióxido de carbono ( $VE/VCO_2 \text{ slope}$ ) e demonstrar a acurácia da distância caminhada na identificação de pacientes com comprometimento funcional; 2) o melhor modelo de regressão para prever o  $VO_{2\text{pico}}$  pelo TC6' e variáveis clínicas de fácil mensuração; 3) a resposta aguda dos níveis do BDNF sérico após exercício e 4) os preditores funcionais e ecocardiográficos e o valor prognóstico do BDNF sérico. Em três estudos transversais, os pacientes com CCh (n=30, n=41, n=81) foram submetidos a exame ecocardiográfico, teste de esforço máximo, TC6' e dosagem do BDNF sérico, antes e após uma sessão de exercício aeróbio. Em estudo longitudinal, os pacientes (n=75) foram acompanhados durante o seguimento por 48 meses e classificados de acordo com a presença de eventos cardiovasculares adversos. Encontrou-se correlação significativa entre a distância caminhada no TC6' e o  $VO_{2\text{pico}}$  ( $r=0,586$ ;  $p<0,001$ ) mas não com o  $VE/VCO_2 \text{ slope}$  ( $r=-0,046$ ;  $p=0,776$ ). A distância de 522m apresentou 72,4% de sensibilidade e 81,8% de especificidade em identificar pacientes com comprometimento funcional. O modelo representado pela equação  $VO_{2\text{pico}} = 53,43 + (1,35 \times \text{sexo}) - (5,59 \times \text{NYHA}) + (0,01 \times \text{distância percorrida no TC6'}) - (0,29 \times \text{idade}) - (0,035 \times \text{IMC})$  apresentou forte correlação entre o  $VO_{2\text{pico}}$  observado e o predito ( $r=0,81$ ;  $p<0,001$ ). O exercício aeróbio agudo reduziu significativamente a concentração do BDNF sérico ( $p=0,006$ ) e a concentração desta neurotrofina foi dependente da intensidade do esforço. Os preditores independentes do BDNF sérico foram a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) ( $p=0,004$ ) e a razão E/e' ( $p=0,016$ ). Apesar de a concentração do BDNF sérico ser menor no grupo que apresentou eventos cardiovasculares adversos após 48 meses ( $p=0,030$ ), a função prognóstica do BDNF sérico é limitada, sendo a FEVE o único preditor independente de morbimortalidade encontrado em pacientes com CCh (HR 0,935, IC 95%: 0,875 a 0,999,  $p=0,048$ ). Conclui-se que o TC6' foi útil na avaliação da CF de pacientes com CCh, que a intensidade do exercício encontra-se intimamente relacionada à resposta do BDNF ao esforço e que, neste grupo de pacientes, quando analisado de forma isolada, o BDNF sérico possui valor prognóstico limitado.

**Palavras-chave:** cardiopatia chagásica, capacidade funcional, Teste de Caminhada de Seis Minutos, fator neurotrófico derivado do cérebro.

## ABSTRACT

Cardiac functional impairment may occur in various degrees in Chagas heart disease (CHD). To evaluate the functional capacity (FC) of these patients, simple and inexpensive methods as the Six-Minute Walk Test (6MWT) are recommended since the Cardiopulmonary Exercise Testing (CPET), the gold standard in this evaluation, is expensive and difficult to perform in areas with limited financial and technological resources. Previous studies have reported that the concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is increased in CHD. This increase seems to be positively associated with FC and concentration of serum BDNF may change in response to exercise in this group. Thus, the objectives of this thesis were, in four separate studies, to verify in patients with CHD: 1) the possible correlation between the distance walked in the 6MWT with  $VO_{2peak}$  and minute ventilation/carbon dioxide production ( $VE/VCO_2$  slope) and demonstrate the accuracy of the distance walked in identifying patients with functional impairment; 2) the regression model that better predict the  $VO_{2peak}$  by 6MWT and easily measured clinical variables; 3) the acute response of serum BDNF levels after exercise and 4) the functional and echocardiographic predictors and prognostic value of serum BDNF. In three cross-sectional studies (n=30, n=41, n=81), patients with CHD underwent echocardiography, maximal exercise testing, 6MWT and measurement of serum BDNF before and after one aerobic exercise session. In a longitudinal study (n=75), patients were followed during 48 months. A significant correlation between the 6MWT distance and  $VO_{2peak}$  ( $r = 0.586$ ;  $p < 0.001$ ) was found, but not with the  $VE/VCO_2$  slope ( $r = -0.046$ ;  $p = 0.776$ ). The distance of 522m showed 72.4% of sensitivity and 81.8% of specificity in identifying patients with functional impairment. The model represented by the equation  $VO_{2peak} = 53.43 + (1.35 \times \text{sex}) - (5.59 \times \text{NYHA}) + (0.01 \times \text{6MWD}) - (0.29 \times \text{age}) - (0.035 \times \text{BMI})$  showed a strong correlation between the observed and predicted values of  $VO_{2peak}$  ( $r = 0.81$ ;  $p < 0.001$ ). The acute aerobic exercise significantly reduced the serum concentration of BDNF ( $p = 0.006$ ) and the concentration of this neurotrophin was intensity-dependent. The independent predictors of serum BDNF were left ventricular ejection fraction (LVEF) ( $p=0.004$ ) and E/e' ratio ( $p=0.016$ ). Despite the lower serum BDNF levels in the group with adverse cardiovascular events after 48 months ( $p=0.030$ ), the prognostic value of serum BDNF is limited and LVEF was the only independent predictor of morbidity and mortality found in patients with CHD (HR 0.935, 95% CI from 0.875 to 0.999,  $p=0.048$ ). We concluded that the 6MWT was useful in the evaluation of FC in patients with CHD, the exercise intensity seems to be closely related to BDNF response in these patients and, when analyzed in isolation, there is no evidence for its use as a prognostic marker.

**Keywords:** Chagas heart disease, functional capacity, Six-minute Walk Test, brain-derived neurotrophic factor.

# 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DCh), uma das principais causas de insuficiência cardíaca (IC) na América Latina, afeta aproximadamente 10 milhões de pessoas<sup>1</sup> e representa um relevante problema socioeconômico e de saúde pública nesses países<sup>2</sup>. A cardiopatia chagásica (CCh) é a forma mais grave e com pior prognóstico pela alta taxa de morbimortalidade<sup>3</sup>, ocorrendo em 30 a 40% dos indivíduos infectados<sup>1; 4</sup>. A fadiga e dispneia, manifestações clínicas comuns nos pacientes com CCh, contribuem para a intolerância ao esforço e progressiva redução da capacidade funcional (CF)<sup>5; 6</sup>.

Na avaliação da CF, os testes de campo vêm sendo utilizados em cardiopatas<sup>7</sup> e pneumopatas<sup>8</sup> por serem simples, fáceis de administrar e menos onerosos em relação ao Teste de Esforço Cardiopulmonar (TECP), padrão-ouro na avaliação da CF. O Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6') é o teste de campo mais comumente aplicado e pode ser realizado em áreas com poucos recursos financeiros e tecnológicos, especialmente nas áreas endêmicas em DCh.

Em pacientes com CCh, um estudo realizado na instituição mostrou que a distância caminhada no TC6' correlacionou-se com escores de qualidade de vida<sup>9</sup>, marcadores inflamatórios e fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE)<sup>10</sup>, permanecendo desconhecida a sua correlação com a medida direta do  $VO_{2\text{pico}}$ .

Além disso, em estudo experimental também realizado por nosso grupo<sup>11</sup>, os pacientes com CCh que aumentaram a distância caminhada em pelo menos 50 metros após treinamento físico também aumentaram significativamente a concentração sérica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).

O BDNF é um membro das neurotrofinas, que são uma família de proteínas essenciais para o desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência dos neurônios<sup>12</sup>. É a neurotrofina mais amplamente distribuída no sistema nervoso central<sup>13</sup> e susceptível à regulação pelo exercício físico<sup>14</sup>.

Na DCh, a concentração sérica do BDNF encontrou-se aumentada tanto em pacientes assintomáticos quanto naqueles com miocardiopatia dilatada em relação aos indivíduos saudáveis ( $p < 0,001$ )<sup>15</sup>, fenômeno atribuído à presença de intenso processo inflamatório e à disfunção autonômica. Entretanto, considerando que o exercício físico pode alterar os níveis do BDNF<sup>14</sup>, é necessário estabelecer o impacto agudo do exercício nos níveis séricos do BDNF nesses pacientes.

Neste cenário, os objetivos desta tese foram verificar na CCh: 1) a possível correlação entre a distância caminhada no TC6' com o  $VO_{2\text{pico}}$  e inclinação do equivalente ventilatório para o dióxido de carbono ( $VE/VCO_2 \text{ slope}$ ) e demonstrar a acurácia da distância caminhada na identificação de pacientes com comprometimento funcional; 2) o melhor modelo para predição do  $VO_{2\text{pico}}$  utilizando a distância caminhada no TC6' e variáveis clínicas de fácil mensuração; 3) o comportamento dos níveis séricos de BDNF após exercício agudo; 4) os determinantes do BDNF sérico assim como seu valor prognóstico.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Insuficiência cardíaca (IC)**

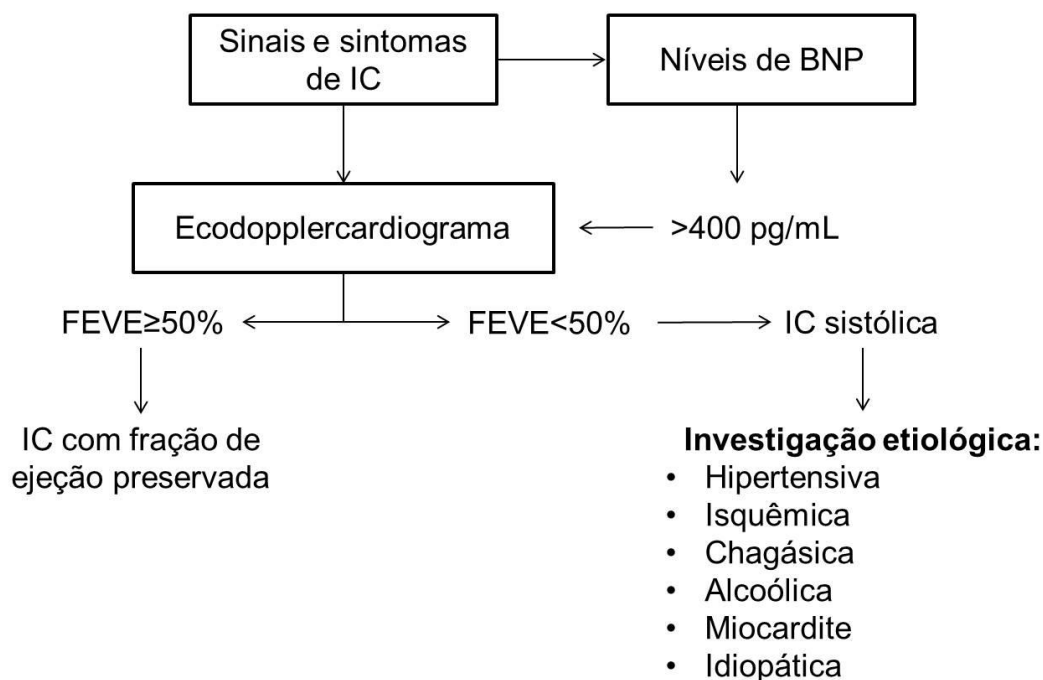
A insuficiência cardíaca (IC) é a via final comum para diversas cardiopatias, sendo conceituada como uma síndrome clínica que ocasiona suprimento sanguíneo inadequado para atender necessidades metabólicas<sup>16</sup>.

A prevalência da IC, de acordo com as diretrizes americanas<sup>17</sup> e europeias<sup>18</sup>, é de 23 milhões em todo o mundo, 1 a 2% da população nos países desenvolvidos e mais de cinco milhões de pessoas nos Estados Unidos. A incidência americana permanece estável, porém alta, estimada em torno de 650.000 novos casos anuais. No Brasil, não existem estudos epidemiológicos abrangentes envolvendo a incidência e prevalência da IC, mas estima-se que haja cerca de 6,4 milhões pacientes com IC<sup>19</sup>.

Com o avanço terapêutico no tratamento da IC e seus fatores de risco, demonstrou-se uma redução das taxas de mortalidade nos últimos anos em quase todas as regiões do Brasil<sup>20</sup>, apesar do crescimento da população idosa e, portanto, em risco potencial para desenvolver IC<sup>21</sup>. Entretanto, estudo recente<sup>22</sup> demonstrou que, na cidade de São Paulo, o número de internações permanece elevado e que o tempo de permanência hospitalar aumentou expressivamente nas últimas duas décadas. Embora sua terapêutica tenha evoluído substancialmente, o prognóstico da doença ainda pode ser considerado desfavorável<sup>23</sup>.

Não há um exame específico para o diagnóstico da IC, sendo esse em grande parte baseado no histórico do paciente, eletrocardiograma, exames laboratoriais

e presença de sintomas como fadiga e dispneia<sup>17</sup>. A investigação clínica, de acordo com a III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica<sup>16</sup>, inclui a análise dos sinais e sintomas, concentração do peptídeo natriurético do tipo B (BNP), função sistólica e provável fator etiológico (FIGURA 1).



**FIGURA 1** – Fluxograma de investigação clínica da insuficiência cardíaca. Abreviações: IC = insuficiência cardíaca; BNP = peptídeo natriurético do tipo B; pg/mL = picograma por mililitro; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

**FONTE:** adaptado de BOCCHI *et al.*<sup>16</sup>

Ao ecocardiograma, a IC apresenta-se sob dois fenótipos distintos: com fração de ejeção (FEVE) preservada (FEVE ≥ 50% e anormalidades na função diastólica) ou com disfunção sistólica (FEVE < 50%)<sup>16; 17; 18; 24</sup>. Outra classificação usual da IC é pela classe funcional da *New York Heart Association* (NYHA), baseando-se na limitação imposta pela sintomatologia na realização das atividades habituais (QUADRO 1).

**QUADRO 1** – Classe funcional da *New York Heart Association* (NYHA)<sup>25</sup>.

<b>CLASSE</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
Classe funcional I	Pacientes assintomáticos durante as atividades físicas habituais.
Classe funcional II	Paciente assintomático em repouso e sintomático durante as atividades habituais.
Classe funcional III	Paciente assintomático em repouso e sintomático em atividades menos intensas que as habituais.
Classe funcional IV	Paciente com dispneia, palpitações e/ou fadiga em atividades de pequena intensidade ou em repouso.

Tanto a FEVE quanto a classe funcional NYHA são parâmetros prognósticos importantes na IC, sendo considerados marcadores independentes de mortalidade nessa população<sup>26; 27</sup>. Outros fatores de importância prognóstica são a idade, as comorbidades, a concentração do BNP e a etiologia<sup>16; 18</sup>.

No Brasil, a principal etiologia da IC é a cardiopatia isquêmica crônica associada à hipertensão arterial. Entretanto, em determinadas regiões geográficas do país (incluindo o estado de Minas Gerais) e em áreas de baixas condições sócio-econômicas, a IC secundária à doença de Chagas (DCh) é a etiologia mais frequente<sup>16</sup>.

## **2.2 Doença de Chagas (DCh)**

A doença de Chagas (DCh) é uma doença provocada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário hemoflagelado transmitido por insetos triatomíneos infectados. De acordo com estudos de referência<sup>1; 3; 28; 29</sup>, a infecção pode ocorrer pelas fezes infectadas, por transfusão sanguínea, transplante de órgãos, da mãe para

a criança e, menos frequentemente, por ingestão de bebida ou comida contaminada ou acidentes de laboratório.

Uma recente revisão sistemática com meta-análise<sup>30</sup> demonstrou queda significativa da prevalência de 4,4% (IC 95%: 2,3 - 8,3%) na década de 80 para 2,4% (IC 95%: 1,5 - 3,8%) nos anos 2000. Além disso, a incidência e o número de mortes anuais caíram drasticamente e o controle vetorial foi alcançado no Brasil, Uruguai, Argentina e Chile<sup>3</sup>. Entretanto, a DCh ainda afeta cerca de 8<sup>31</sup> a 10 milhões<sup>32</sup> de pessoas no mundo, sendo que outros 100 milhões encontram-se em condições de risco de se infectarem<sup>3; 29</sup>.

Houve uma mudança no perfil epidemiológico da DCh pelos novos padrões de imigração e controle da transmissão, que conduziram à urbanização e globalização da doença<sup>29</sup>, estando presente nos Estados Unidos, Canadá e em países europeus<sup>33; 34; 35</sup>. Estima-se que a prevalência de DCh em imigrantes latinos em países europeus seja de 4,2% (IC 95%: 2,2 – 6,7%) e que grande parte desses imigrantes seja boliviana (18,1%; IC 95%: 13,9 – 22,7%)<sup>36</sup>.

Quanto ao diagnóstico, a DCh pode ser confirmada por técnicas parasitológicas diretas na fase inicial da doença, que cursa com alta parasitemia<sup>37</sup>. Com a progressão da doença, em virtude da redução da parasitemia, o diagnóstico é feito por técnicas indiretas para detectar anticorpos anti-*T. cruzi*, incluindo a imunofluorescência indireta, a hemaglutinação indireta e ensaios imunoenzimáticos<sup>1</sup>.

A história natural da doença compreende duas fases sequenciais: a fase inicial aguda e a fase crônica, esta classificada como forma indeterminada, cardíaca ou digestiva. A fase aguda geralmente acontece em crianças de até 10 anos de idade e a mortalidade depende principalmente da presença de cardiomiopatia

aguda e/ou meningoencefalite<sup>1</sup>. Nessa fase os sintomas geralmente estão ausentes ou são brandos<sup>38</sup>. Quando sintomáticos, os pacientes podem apresentar chagoma, sinal de Romaña, febre, linfadenopatia e mal-estar generalizado<sup>28; 31; 38</sup>.

A forma indeterminada foi definida inicialmente por Carlos Chagas pela ausência de manifestações clínicas, eletrocardiográficas ou radiológicas significativas<sup>39</sup>. Entretanto, anormalidades cardiovasculares estruturais e funcionais podem ser encontradas, em número significativo desses casos, por métodos propedêuticos mais sofisticados<sup>40</sup>. De qualquer forma, pacientes na forma indeterminada apresentam boa capacidade laborativa e apresentam bom prognóstico em médio prazo<sup>40</sup>.

Decorridos 20 a 30 anos da infecção inicial, 30 a 40% dos indivíduos infectados desenvolvem cardiomiopatia crônica, principal responsável pelos elevados índices de morbimortalidade, cujas manifestações clínicas incluem a insuficiência cardíaca, morte súbita cardíaca, tromboembolismo e múltiplos transtornos da formação e condução do estímulo<sup>1; 3; 28; 32</sup>.

### 2.2.1 Cardiopatia chagásica

A cardiopatia chagásica (CCh), forma cardíaca da DCh, cursa com inflamação crônica, usualmente de baixa intensidade mas incessante, ocasionando destruição tissular progressiva e fibrose cardíaca<sup>2</sup>. Apesar de ter um quadro clínico semelhante da etiologia idiopática, a cardiomiopatia dilatada chagásica tem algumas características peculiares, como o intenso processo inflamatório e extensa fibrose<sup>41</sup>, sendo a etiologia chagásica um preditor independente de

mortalidade por todas as causas em pacientes com IC<sup>42</sup>. A patogênese é complexa e a razão pela qual a CCh exibe um pior prognóstico ainda não foi completamente estabelecida, sendo frequentemente atribuída à maior incidência de morte súbita cardíaca, disfunção ventricular direita, extensa miocardite e fibrose intersticial<sup>43</sup>.

A persistência do parasita no miocárdio, a resposta autoimune, a disfunção autonômica e distúrbios microvasculares são as principais hipóteses acerca da patogênese da CCh<sup>44; 45</sup>. De fato, a presença do parasita no miocárdio é um fator relevante para desencadear e manter o processo fisiopatológico da DCh<sup>46</sup> e, juntamente com a resposta imunológica, contribui significativamente para a agressão miocárdica na CCh<sup>45</sup>. Entretanto, a disfunção autonômica parece desempenhar um papel igualmente importante na progressão da CCh<sup>47</sup>, sendo a disautonomia parassimpática um fenômeno precoce e independente na DCh, podendo preceder até mesmo a disfunção ventricular sistólica<sup>48</sup>.

Arritmias ventriculares são importantes manifestações da CCh<sup>49</sup> e estão associadas à maior morbimortalidade<sup>28</sup>. Alterações eletrocardiográficas como extrassístoles ventriculares frequentes, bloqueio de ramo direito, hemibloqueio anterior esquerdo, anormalidades de repolarização, taquicardia ventricular não sustentada e fibrilação atrial são comuns em pacientes com CCh<sup>50</sup>. Além disso, alterações ecocardiográficas como dilatação cardíaca global, hipocinesia difusa e aneurismas ventriculares podem ser sugestivas de progressão da cardiopatia<sup>47</sup>. Disfunção sistólica e aumento das dimensões ventriculares possuem significativo valor prognóstico de morbimortalidade nessa população<sup>51</sup>.

Vários marcadores prognósticos têm sido descritos na literatura, entretanto, a classe funcional NYHA, a FEVE e a taquicardia ventricular não sustentada foram

identificadas na maior parte dos estudos<sup>28</sup>. A realização de testes de esforço também é indicada na CCh para avaliação da terapia antiarrítmica, para a prescrição de exercício e avaliação da capacidade funcional (CF)<sup>21; 32</sup>.

### **2.3 Capacidade funcional (CF)**

Classicamente, os termos CF, capacidade de exercício e tolerância ao esforço são considerados sinônimos e implicam que um teste de esforço máximo tenha sido realizado e que a intensidade máxima tenha sido alcançada pelo indivíduo<sup>52</sup>. Diante da grande variedade de testes de esforço de intensidade máxima e submáxima, a CF também definida como a extensão que uma pessoa pode aumentar a intensidade do exercício e manter esses níveis elevados<sup>53</sup> ou a habilidade de administrar as demandas físicas nas atividades cotidianas<sup>54</sup>.

Com o advento da Classificação Internacional de Funcionalidade (CIF), as definições de desempenho e capacidade funcional foram melhor caracterizadas. O desempenho funcional refere-se ao envolvimento em atividades no ambiente de vida habitual, enquanto a CF é definida como a capacidade de um indivíduo para executar uma tarefa ou ação em um ambiente uniforme e padronizado<sup>55</sup>. Em consequência, convencionou-se denominar de “comprometimento” ou “impedimento” (traduções para a língua portuguesa do termo *impairment*) as alterações funcionais e/ou estruturais do corpo, enquanto “deficiência” (tradução do termo *disability*) refere-se a limitações e restrições vivenciadas pelo indivíduo. Dentre os métodos de avaliação da CF, os questionários e auto relatos são considerados os instrumentos mais simples e rápidos de mensuração, entretanto, perguntas como “quantos degraus de escada você consegue subir?”

são difíceis de serem respondidas e os resultados são frequentemente sub ou superestimados<sup>56</sup>.

O melhor parâmetro para se avaliar a CF é pelo consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2máx}$ ), definido como a habilidade do sistema cardiorrespiratório em transportar oxigênio para os diversos tecidos do corpo<sup>57</sup>. O  $VO_{2máx}$  pode ser estimado ou predito pelo teste ergométrico convencional ou medido de forma direta pelo Teste de Esforço Cardiopulmonar (TECP)<sup>58</sup>. Entretanto, por serem complexos de administrar, não representarem as atividades do cotidiano, ter alto custo operacional e pelo risco inerente à realização do esforço máximo em algumas populações, métodos alternativos, simples e menos onerosos, como os testes submáximos e testes de campo, têm sido desenvolvidos<sup>58; 59</sup>. As principais vantagens e desvantagens dos testes máximos e submáximos na avaliação da CF em pacientes com IC são demonstrados no Quadro 2.

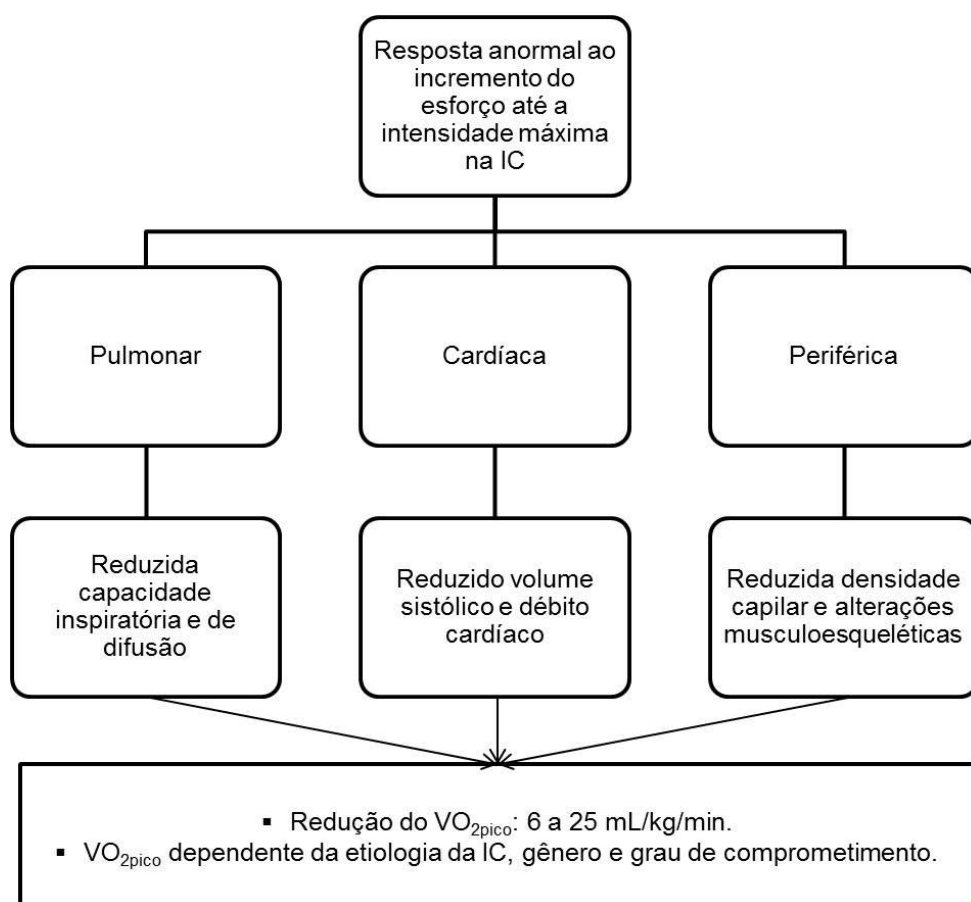
**QUADRO 2** – Principais vantagens e desvantagens dos três principais modelos de teste de esforço realizados em pacientes com insuficiência cardíaca.

<b>TESTE</b>	<b>VANTAGENS</b>	<b>DESVANTAGENS</b>
<i>Teste de Esforço Cardiopulmonar</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Padrão-ouro na avaliação da CF;</li> <li>- Parâmetros adicionais com valor prognóstico não mensurados por outros testes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alto custo operacional;</li> <li>- Maior tempo gasto no processamento e interpretação dos resultados.</li> </ul>
<i>Teste ergométrico convencional</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande disponibilidade na prática clínica;</li> <li>- Menos oneroso que o TECP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erros na predição do <math>VO_{2máx}</math>;</li> <li>- Parâmetros prognósticos importantes não disponíveis.</li> </ul>
<i>Testes submáximos</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menor risco ao pacientes pela intensidade do esforço;</li> <li>- Menos oneroso que os testes máximos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erros na predição do <math>VO_{2máx}</math>.</li> </ul>

Abreviações: CF = capacidade funcional; TECP = Teste de Esforço Cardiopulmonar;  $VO_{2máx}$  = consumo máximo de oxigênio.

**FONTE:** KAMINSKY & TUTTLE<sup>58</sup>

Na IC, de etiologia chagásica ou não, geralmente ocorre a redução do débito cardíaco, responsável pela perfusão tecidual inapropriada, que desencadeia intolerância progressiva ao exercício e redução da CF, inicialmente observada em esforço de alta intensidade e podendo evoluir para manifestações de dispneia em repouso<sup>16</sup>. Concomitantemente, a densidade capilar reduzida<sup>60</sup> associada às alterações na musculatura esquelética<sup>61</sup> contribuem para a diminuição de 50% da CF nos pacientes com IC em relação aos saudáveis<sup>62</sup>. Os mecanismos anormais envolvidos no comprometimento funcional na IC são apresentados na figura 2.



**FIGURA 2** – Manifestações anormais durante o esforço responsáveis pela redução da capacidade funcional na insuficiência cardíaca.

**FONTE:** adaptado de Arena, Myers e Guazzi<sup>62</sup>.

Na DCh, estudos prévios demonstraram que o  $VO_{2m\acute{a}x}$  é significativamente menor, em relação ao grupo controle saudável, tanto em pacientes assintomáticos<sup>63</sup> como em pacientes com CCh<sup>64</sup> ( $p < 0,001$  para ambos). Alterações periféricas também foram demonstradas por Montes de Oca *et al.*<sup>65</sup>, que verificaram aumento de atividade glicolítica ( $p < 0,001$ ) e redução da atividade oxidativa ( $p < 0,05$ ) em pacientes chagásicos em relação ao grupo controle. Esses autores também encontraram correlações significativas entre características do músculo esquelético (atividade enzimática, tipo de fibra muscular e capilaridade) e índices de oferta de oxigênio (limiar de anaerobiose e pulso de oxigênio).

Sendo a diminuição  $VO_{2m\acute{a}x}$  um indicador de pior prognóstico na CCh<sup>3</sup>, a realização de testes de esforço máximo foi recomendada pela I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica<sup>2</sup> para acompanhamento da CF destes pacientes.

### 2.3.1 Teste de Esforço Cardiopulmonar (TECP)

O teste ergométrico convencional é um método não invasivo valioso na estimativa do  $VO_{2m\acute{a}x}$ , na detecção de arritmias e na avaliação do comportamento da pressão arterial com ou sem o uso de medicamentos<sup>66</sup>. Entretanto, o  $VO_2$  é estimado e calculado de forma indireta. Já o TECP trouxe o enfoque respiratório aos testes de esforço, mensurando diretamente o volume de ar ventilado e as respectivas frações de oxigênio e dióxido de carbono<sup>52; 67; 68</sup>.

As principais indicações do TECP, de acordo com a *American Thoracic Society/American College of Chest Physicians*<sup>67</sup> incluem a avaliação de

pacientes com doenças/sintomas cardiovasculares e respiratórias, intolerância ao esforço, avaliação pré-operatória ou pré-transplante e para prescrição de exercício para reabilitação pulmonar e cardíaca.

Nos pacientes com IC, o  $VO_{2\text{pico}}$  e a inclinação do equivalente ventilatório para o dióxido de carbono ( $VE/VCO_2 \text{ slope}$ ) são as variáveis mais comumente avaliadas ao TECP<sup>69</sup> e com valor prognóstico bem estabelecido pela literatura<sup>62; 70</sup>, sendo o  $VE/VCO_2 \text{ slope}$  o melhor marcador prognóstico isolado.

O consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) no pico do exercício é frequentemente denominado  $VO_{2\text{pico}}$  nos pacientes com IC, uma vez que estes pacientes geralmente possuem CF reduzida e não alcançam o platô no consumo de oxigênio<sup>67</sup>. Também já foi previamente demonstrada a correlação entre o comprometimento funcional e anormalidades patológicas presentes na IC, como o menor débito cardíaco durante o exercício<sup>71</sup>, redução da variabilidade da frequência cardíaca<sup>72</sup> e aumento dos níveis BNP<sup>73</sup>, o que justifica os baixos valores de  $VO_{2\text{pico}}$  usualmente encontrados nesta população.

Já o  $VE/VCO_2 \text{ slope}$ , calculado pela relação entre a ventilação minuto (VE) e a produção de dióxido de carbono ( $VCO_2$ ), constitui indicador da eficiência da eliminação do dióxido de carbono durante o esforço<sup>52</sup>. Encontra-se geralmente aumentado na IC e está relacionado a anormalidades na ventilação/perfusão destes pacientes, incluindo o processo inflamatório, fibrose e aumento da pressão pulmonar, gerando uma resposta ventilatória exagerada ao esforço<sup>52; 62;</sup>

<sup>67</sup>.

Em pacientes com IC de etiologia chagásica, o  $VO_{2\text{pico}}$  e o  $VE/VCO_2 \text{ slope}$  mostraram-se como importantes preditores de mortalidade em longo prazo

( $p < 0,01$ ), mas o  $VE/VCO_2$  slope foi o único preditor independente dentre as variáveis avaliadas ao TECP<sup>74</sup>.

A despeito de sua grande importância clínica, o TECP é uma ferramenta de alto custo operacional, o que limita a sua aplicabilidade na rotina terapêutica, principalmente em regiões endêmicas para DCh. Além disso, testes de intensidade máxima podem não refletir as atividades do cotidiano, normalmente realizadas em nível submáximo. Desta forma, ferramentas mais simples, acessíveis e menos onerosas tornam-se necessárias na avaliação da CF em locais onde o TECP não esteja habitualmente disponível. Uma possível alternativa seria a utilização dos testes de campo, como o TC6'.

### 2.3.2 Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6')

Os testes de caminhada são instrumentos que podem ser utilizados na avaliação e acompanhamento da CF, na verificação da eficácia do seu tratamento e como auxílio no estabelecimento de seu prognóstico<sup>54</sup>, com base no tempo de esforço, distância percorrida ou com incrementos de velocidade.

Butland *et al.*<sup>75</sup> verificaram a reprodutibilidade dos testes de dois, seis e doze minutos em pneumopatas crônicos. Concluíram que, apesar da alta correlação entre a distância caminhada nos três testes, o teste de seis minutos era o mais indicado na avaliação da CF, por associar eficácia em verificar alterações na CF e facilidade de execução tanto para o paciente quanto para o terapeuta. Posteriormente, o TC6' tornou-se o teste de campo mais utilizado na avaliação da CF em pacientes com doenças crônicas.

A metodologia do TC6' foi padronizada por diretrizes internacionais<sup>76</sup> e nacionais<sup>77</sup>, segundo as quais o paciente deve ser instruído a caminhar o mais rápido possível, sem correr, em um corredor plano de 30m (100 pés) durante seis minutos. A cada minuto, frases padronizadas sobre a contagem de tempo devem ser direcionadas ao paciente. Também é recomendado que este não converse durante o teste e que o terapeuta não caminhe ao lado dele para não influenciar seu ritmo da passada. São realizados dois testes, com intervalo entre eles, e um terceiro teste só é necessário quando a diferença da distância caminhada entre os dois anteriores for superior a 10%. A CF funcional é determinada pela maior distância caminhada entre os testes realizados.

Em pacientes com IC, a distância caminhada no TC6' foi apontada como uma forte e independente preditora de morbidade e mortalidade<sup>78; 79</sup> e como uma variável sensível em detectar alterações na CF após intervenções terapêuticas. Além disso, outras variáveis, como a frequência cardíaca de recuperação<sup>80</sup>, apresentaram informações úteis na avaliação da CF, complementares à distância percorrida.

Na cardiopatia chagásica, já se demonstrou correlação do TC6' com a FEVE e marcadores inflamatórios e de ativação neuro-humoral<sup>10</sup> e com a qualidade de vida avaliada pelo *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire*<sup>81</sup>. Entretanto, apesar de o objetivo primário do teste ser avaliar a CF, não foram encontrados estudos na literatura pesquisada que tivessem correlacionado a distância caminhada durante o TC6' com o  $VO_{2\text{pico}}$  avaliado de forma direta pelo TECP em pacientes com CCh.

O resumo dos estudos encontrados na literatura que verificaram a aplicabilidade do TC6' na cardiopatia chagásica são apresentados na Tabela 1.

**TABELA 1** – Resumo dos estudos encontrados na literatura pesquisada sobre a aplicabilidade do TC6' em pacientes com doença de Chagas.

ESTUDO	POPULAÇÃO	OBJETIVO	RESULTADO
Dourado <i>et al.</i> <sup>9</sup>	61 pacientes com cardiomiopatia chagásica (50±14 anos, NYHA I-IV, FEVE 33,5±12%).	Avaliar a qualidade de vida de pacientes com cardiomiopatia chagásica e sua correlação com variáveis de importância prognóstica.	Correlação significativa entre a distância caminhada no TC6' e qualidade de vida pelo MLwHFQ (r = -0,4; p<0,001).
Vilas-Boas <i>et al.</i> <sup>82</sup>	28 pacientes com cardiomiopatia chagásica (52,2±9,9 anos, NYHA III-IV, FEVE 20,1±6,8%).	Avaliar efeitos precoces do transplante de células de medula óssea para o miocárdio de pacientes IC de etiologia chagásica.	Aumento significativo da distância caminhada no TC6' dois meses após o transplante (355±136 m para 443±110 m; p = 0,003).
Sousa <i>et al.</i> <sup>10</sup>	38 pacientes com cardiomiopatia chagásica (48±10 anos, NYHA I-III, FEVE 45±14%).	Correlacionar a distância caminhada no TC6' com marcadores de gravidade da cardiopatia (FEVE, MCP-1 e BNP).	Correlação inversa e significativa com BNP (r = -0,349, p=0,04) e MCP-1 (r = -0,358, p=0,04). Correlação significativa com FEVE (r=0,451, p=0,004).
Lima <i>et al.</i> <sup>83</sup>	40 pacientes com cardiomiopatia chagásica (49.5±7.8 anos, NYHA I-II, FEVE ≤45%).	Verificar os efeitos do treinamento aeróbio de 12 semanas sobre a capacidade funcional, BNP e qualidade de vida.	Aumento significativo da distância caminhada no TC6' após treinamento físico no grupo experimental (p<0,001). Sem alteração significativa da distância caminhada no grupo controle (p=0,464).

**TABELA 1** (continuação) – Resumo dos estudos encontrados na literatura pesquisada sobre a aplicabilidade do TC6' em pacientes com doença de Chagas.

ESTUDO	POPULAÇÃO	OBJETIVO	RESULTADO
Dourado <i>et al.</i> <sup>81</sup>	60 pacientes com cardiopatia chagásica (55±14 anos, 15 em NYHA III-IV, FEVE 44,9±13,8%) e 48 pacientes com doença de Chagas e hipertensão arterial sistêmica (63±10 anos, 8 em NYHA III-IV, FEVE 51,8±12,9%).	Comparar a distância caminhada no TC6' de pacientes com IC de etiologia chagásica com e sem hipertensão arterial sistêmica.	Sem diferenças significativas na distância caminhada no TC6' entre os grupos chagásico e chagásico com hipertensão arterial sistêmica (p>0,05).
Lima <i>et al.</i> <sup>11</sup>	19 pacientes com cardiomiopatia chagásica (48,5±8,7 anos, NYHA I-II, FEVE 36,9±7,4%).	Verificar a correlação entre o aumento da distância caminhada no TC6' após treinamento físico de 12 semanas com BNP, BDNF, variabilidade da frequência cardíaca e parâmetros de função sistólica.	Correlação entre o aumento da distância caminhada no TC6' após treinamento com BDNF basal (r=0,673, p=0,002), ΔBDNF (r = -0,739, p<0,001), %FC máxima atingida no teste de esforço máximo (r=0,527, p=0,020), SDNN (r=0,555, p=0,014) e rMSSD (r=0,558, p=0,013).
Vieira <i>et al.</i> <sup>84</sup>	32 pacientes chagásicos com (n=16, 53,5±9,2 anos, NYHA I-III, FEVE 34,1±8%) e sem cardiopatia (n=16, 51,9±11,9 anos, NYHA I, FEVE 67,3±5,4%).	Avaliar a força muscular inspiratória e correlacioná-la com a distância caminhada no TC6', qualidade de vida e percepção do esforço.	Sem alteração significativa da distância caminhada no TC6' entre os grupos com e sem cardiopatia (p=0,239).

Abreviações: NYHA = New York Heart Association, FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo, TC6' = Teste de Caminhada de Seis Minutos, MLwHFQ = Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire, IC = insuficiência cardíaca, MCP-1 = Proteína Quimiotática para Monócitos/Macrófragos, BNP = peptídeo natriurético do tipo B, BDNF = fator neurotrófico derivado do cérebro, SDNN = Desvio-padrão de todos os ciclos R-R mensurados durante o registro, rMSSD = Raiz quadrada da média da soma do quadrado das diferenças entre ciclos adjacentes durante o registro.

Conforme apresentado na Tabela 1, Lima *et al.*<sup>11</sup> demonstraram que, após treinamento físico, o TC6' foi eficaz em detectar alterações na CF<sup>83</sup> e que o melhor desempenho no teste após o treinamento estava associado ao maior aumento dos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).

#### **2.4 Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)**

O BDNF foi primeiramente descrito em 1980<sup>85</sup> como um membro das neurotrofinas, que são uma família de proteínas essenciais para o desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência dos neurônios<sup>12</sup>. Todas as neurotrofinas possuem características bioquímicas similares em domínios variáveis, o que determina seu vínculo a um receptor específico e conduz a diferentes efeitos biológicos<sup>13</sup>.

O BDNF é a neurotrofina mais amplamente distribuída no sistema nervoso central, desempenhando diversas funções como a de regulação axonal, crescimento e orientação dendrítica, participação na liberação de neurotransmissores e no potencial de ação de longa duração<sup>13</sup>. Concentrações significativas de BDNF podem ser encontradas tanto no sistema nervoso central (SNC) como na periferia<sup>86</sup>. Além disso, sugeriu-se que o BDNF poderia atravessar a barreira hematoencefálica<sup>87</sup>, fato reafirmado posteriormente pela correlação positiva entre os níveis séricos e corticais de BDNF em ratos<sup>88</sup>. Desta forma, os níveis séricos de BDNF podem refletir os níveis corticais desta neurotrofina<sup>89</sup>.

Os primeiros estudos correlacionaram os níveis circulantes de BDNF a disfunções psiquiátricas e neurodegenerativas<sup>13</sup>. Entretanto, evidências atuais

sugerem que o BDNF também esteja envolvido em vários fenômenos não neuronais, mas também periféricos e metabólicos<sup>14</sup>, e que seus níveis circulantes possam ser marcadores de várias doenças.

Alterações significativas na concentração do BDNF já foram descritas em pacientes com Alzheimer<sup>90</sup>, Parkinson<sup>91</sup>, esquizofrenia<sup>92</sup>, doença de Huntington<sup>93</sup>, transtorno bipolar<sup>94</sup> e diabetes melito do tipo 2<sup>95</sup> em relação a sujeitos saudáveis.

Estudos prévios também relacionaram a concentração do BDNF com doenças cardiovasculares<sup>96; 97</sup>. Jiang *et al.*<sup>98</sup>, por exemplo, demonstraram, em pacientes com *angina pectoris*, que o BDNF plasmático foi um preditor independente em quatro anos para evento coronário maior (HR 1,25,  $p < 0,01$ ) e morte por causa cardíaca (HR 1,29,  $p < 0,01$ ).

Além da sua alteração em condições patológicas, os níveis circulantes de BDNF também podem modificar-se por estímulos externos, como medicação antidepressiva e pelo exercício físico<sup>14; 99</sup>.

#### 2.4.1 Relação entre o exercício e o BDNF

Verificar o efeito do exercício sobre os níveis circulantes do BDNF foi o objetivo da revisão sistemática conduzida por Knaepen *et al.*<sup>14</sup>. Observou-se aumento dos níveis do BDNF em 69% dos estudos envolvendo sujeitos saudáveis e em 86% dos pacientes com doenças crônicas após uma única sessão de exercício aeróbio. Entretanto, os estudos verificaram tal efeito em diferentes intensidades de exercício, o que dificulta a generalização dos resultados.

Outros autores<sup>89; 100</sup> verificaram a relação entre os níveis circulantes de BDNF e CF em sujeitos saudáveis e encontraram correlação inversa e significativa ( $p < 0,05$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente) entre as variáveis. Uma possível explicação para este fato é a maior concentração de cortisol, um conhecido inibidor da expressão do mRNA do BDNF no SNC<sup>101</sup>, em indivíduos com maior CF<sup>102</sup>.

Nofuji *et al.*<sup>103</sup> também hipotetizaram que indivíduos fisicamente ativos podem apresentar maior degradação do BDNF em relação aos sedentários para reparar as microlesões provocadas pelo exercício físico

Quanto ao treinamento físico, poucos estudos foram realizados e ainda não está claro se ocorrem adaptações na concentração do BDNF circulante com a prática de exercício físico regular<sup>14</sup>.

#### 2.4.2 Valor prognóstico do BDNF

Quanto à sua propriedade prognóstica, o BDNF mostrou-se um marcador eficaz na predição do desfecho clínico em pacientes depressivos<sup>104</sup> e após traumatismo cranioencefálico<sup>105</sup> mas não em pacientes com doença de Alzheimer<sup>106</sup>, esquizofrenia<sup>107</sup> ou após acidente vascular encefálico<sup>108</sup>.

Estudos recentes também avaliaram o possível valor prognóstico do BDNF em pacientes com IC.

Fukushima *et al.*<sup>109</sup> avaliaram o BDNF sérico de 58 pacientes com IC (59,2±13,7 anos, NYHA I-III). Na população estudada, a concentração do BDNF foi um preditor independente de eventos adversos após 20,3 meses de seguimento (HR 0,41, IC 95%: 0,20 - 0,84,  $p = 0,003$ ).

Kadowaki *et al.*<sup>110</sup> demonstraram que o BDNF sérico de pacientes com IC (n=134, 71±13 anos, NYHA II-IV) foi significativamente inferior nos grupos com evento cardíaco após 426 dias de seguimento em relação ao grupo que não apresentou eventos adversos (p<0,001). Além disso, observou-se que a concentração sérica desta neurotrofina inferior a 12,4 ng/mL foi um preditor independente de eventos cardíacos (HR 2,9, IC 95%: 1,6 - 5,3; p=0,0004).

Considerando as peculiaridades da IC de etiologia chagásica em relação às demais etiologias, considerou-se relevante avaliar a concentração sérica do BDNF nessa população, assim como seus determinantes e função prognóstica.

#### 2.4.3 O BDNF na doença de Chagas

A comparação dos níveis circulantes de BDNF de pacientes chagásicos em relação a indivíduos saudáveis foi demonstrada por Martinelli *et al.*<sup>15</sup>. Os autores compararam os níveis séricos de BDNF em sujeitos saudáveis (n=26), pacientes chagásicos assintomáticos (n=11), com cardiopatia chagásica sem dilatação ventricular (n=15) e com cardiomiopatia dilatada (n=29). Foram encontrados valores significativamente maiores do BDNF em todos os grupos com DCh (p<0,001) em relação ao grupo saudável, fenômeno atribuído à presença de processo inflamatório e à disfunção autonômica.

Em pacientes com cardiomiopatia dilatada chagásica, Lima *et al.*<sup>11</sup> verificaram o efeito crônico do exercício físico após 12 semanas de treinamento aeróbio moderado sobre os níveis de BDNF e encontraram correlação direta e significativa (r=0,673; p=0,002) entre o aumento dos níveis de BDNF e da CF após o treinamento. Segundo os autores, o aumento tanto do BDNF quanto da

CF foram observados principalmente nos indivíduos com função autonômica preservada e menores níveis de BDNF antes do treinamento. Entretanto, os efeitos agudos do exercício físico sobre os níveis circulantes de BDNF, seus principais determinantes e seu valor prognóstico permanecem desconhecidos.

### 3. OBJETIVOS

- Verificar a possível relação entre a distância caminhada no TC6' com o  $VO_{2\text{pico}}$  e  $VE/VCO_2$  *slope* avaliados pelo TECP em pacientes com cardiopatia chagásica;
- Determinar um modelo de regressão para a predição do  $VO_{2\text{pico}}$  pelas distância caminhada no TC6' e variáveis clínicas de fácil mensuração em pacientes com cardiopatia chagásica;
- Verificar o comportamento do BDNF após exercício agudo em pacientes com cardiopatia chagásica estratificados de acordo com a disfunção ventricular e intensidade de esforço atingida.
- Determinar os preditores funcionais e ecocardiográficos do BDNF sérico e seu valor prognóstico em pacientes com cardiopatia chagásica.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Aspectos éticos**

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – COEP da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, sob o parecer nº. 156.389, CAAE 03993912.6.0000.5149 (ANEXO A) e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão – DEPE, do Hospital das Clínicas da UFMG.

Antes de iniciar a participação nos estudos experimentais, os voluntários receberam todas as informações relacionadas aos objetivos propostos e procedimentos metodológicos do estudo, e, após concordarem em participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) para participação na pesquisa, cuja condução norteou-se pelas Resoluções 196/96 e 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### **4.2 Divisão dos estudos**

Esta tese aborda quatro estudos realizados durante o doutoramento, aqui denominados de Artigo I, Artigo II, Artigo III e Artigo IV. A metodologia seguida em cada estudo está detalhada separadamente, de acordo com suas especificidades, nos tópicos seguintes.

O Artigo I, cujo título é “*Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary*

*Exercise Testing*”, foi publicado em 05/10/2014 no periódico *International Journal of Cardiology*, fator de impacto 4.03 e QUALIS A1 para a área da Medicina II.

Referência completa: COSTA, H. S. *et al.* Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing. **Int J Cardiol**, v. 177, n. 2, p. 661-3, Dec 15 2014.

O Artigo II, intitulado “*Prediction of peak oxygen uptake in patients with Chagas heart disease: value of the Six-minute Walk Test*”, será enviado ao periódico *American Journal of Cardiology*, fator de impacto 3.2 e QUALIS A2 para Medicina II, após as considerações da banca examinadora. O artigo está formatado dentro das normas da revista.

O Artigo III também foi publicado no periódico *International Journal of Cardiology* (fator de impacto 4.03/QUALIS A1 para Medicina II) em 21/04/2014 com o título “*Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease*”.

Referência completa: COSTA, H. S. *et al.* Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease. **Int J Cardiol**, v. 174, n. 3, p. 828-30, Jul 1 2014.

O Artigo IV, “*Prognostic value and factors related to serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease*”, trata-se de um estudo longitudinal ainda não enviado para publicação. A sugestão é enviá-lo para o periódico *Clinical*

*Neurophysiology*, fator de impacto 3.1 e QUALIS A2 para Medicina II. Assim como os demais, o referido artigo está formatado dentro das normas da revista, com exceção das figuras e tabelas, que estão dentro do texto para melhor análise dos resultados.

### **4.3 Métodos**

#### **4.3.1 Artigo I – “Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing”**

Trata-se de estudo transversal, no qual 41 pacientes com CCh foram selecionados no ambulatório do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP) e submetidos a ecocardiograma, TECP e TC6'. O objetivo foi verificar a correlação entre a distância caminhada no TC6' com as principais variáveis verificadas ao TECP e estabelecer o ponto de corte ideal da distância caminhada para identificar os pacientes com comprometimento funcional. Os pacientes também foram posteriormente estratificados de acordo com a função ventricular em grupo dilatado (disfunção ventricular) e grupo não dilatado (fração de ejeção do ventrículo esquerdo preservada).

Para o cálculo amostral foi utilizado o *software* G Power versão 3.1.0. Baseando-se em estudo prévio<sup>111</sup> e considerando o erro alfa de 0,05, poder de 80% e coeficiente de correlação entre a distância caminhada no TC6' com o  $VO_{2\text{pico}}$  de  $r = 0,5$ , indicou-se uma amostra de 38 pacientes.

Os critérios de inclusão adotados foram o diagnóstico sorológico positivo para DCh, alterações clínicas e eletrocardiográficas compatíveis com a CCh e estilo de vida sedentário de acordo com o *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) (ANEXO B). Excluí-se pacientes com doenças sistêmicas ou cardiopatias de outras etiologias, com comorbidades e aqueles que não se encontravam aptos a realizar os testes de esforço.

O ecocardiograma foi realizado de acordo com as diretrizes da *American Society of Echocardiography*<sup>112</sup> utilizando aparelho Philips HDI 5000-ATL (Bothell, Washington, EUA). As variáveis de interesse foram a FEVE pelo método de Simpson e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.

O TECP foi realizado em laboratório com ar-condicionado em esteira rolante com a análise do sistema metabólico ErgoPC Elite Micromed-Brasília/DF. O analisador dos gases expirados utilizado foi o MetaLyzer® Cortex 3B - Leipzig, Alemanha, 1998. O protocolo utilizado foi o de rampa, esteira Centurion200 da Micromed Biotecnologia Ltda. As variáveis de interesse foram o  $VO_{2\text{pico}}$ , o  $VE/VCO_2$  *slope* e a porcentagem da frequência cardíaca em relação ao predito.

O TC6' seguiu a padronização da *American Thoracic Society*<sup>76</sup>, sendo a variável de interesse a distância caminhada. Os testes de esforço foram realizados com intervalo de uma semana entre eles.

Na análise estatística, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A análise descritiva dos resultados foi apresentada, conforme apropriado, como média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil. A correlação entre as variáveis foi realizada pelo teste de correlação de Pearson e a diferença entre os grupos dilatado e não dilatado pelo qui-quadrado, Mann-Whitney e teste T para amostras independentes adotando

o nível de significância de 5%. A curva ROC (*receiver operating characteristic*) foi realizada para identificar a distância caminhada pelo TC6' com melhor sensibilidade e especificidade na identificação de comprometimento funcional dos pacientes selecionados, definido pelo  $VO_{2\text{pico}} \leq 20$  mL/kg/min de acordo com os critérios de Weber e colaboradores<sup>113</sup>.

#### **4.3.2 Artigo II – “Prediction of peak oxygen uptake in patients with Chagas heart disease: value of the Six-minute Walk Test”**

Neste estudo transversal, 81 pacientes com cardiopatia chagásica foram selecionados no ambulatório do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP).

O cálculo amostral foi realizado utilizando-se o *software* G Power versão 3.1.7. Considerando o tamanho do efeito médio de 0,15, erro alfa de 0,05, poder de 80% e a presença de cinco preditores do  $VO_{2\text{pico}}$ , obteve-se indicação de amostra de 75 pacientes.

O objetivo foi determinar um modelo de predição do  $VO_{2\text{pico}}$  pelo TC6' e variáveis clínicas de fácil mensuração. Foram selecionados pacientes estáveis com diagnóstico sorológico para doença de Chagas, com alterações eco e eletrocardiográficas compatíveis com a CCh e sem comorbidades associadas.

Os pacientes elegíveis foram submetidos à avaliação clínica, ecocardiograma, teste de esforço máximo e TC6'. O ecocardiograma foi norteado pelas diretrizes da *American Society of Echocardiography*<sup>112</sup> utilizando-se aparelho Philips HDI 5000-ATL (Bothell, Washington, EUA). As variáveis de interesse foram a FEVE

pelo método de Simpson, os diâmetros sistólico e diastólico do ventrículo esquerdo e a razão E/e’.

O teste de esforço sintoma-limitado foi realizado em esteira rolante (Digistress Pulsar, Micromed, Brazil) pelo protocolo de Bruce. A intensidade máxima foi encorajada pelo cardiologista responsável pelo exame, que desconhecia os resultados das avaliações anteriores. O  $VO_{2\text{pico}}$ , variável de interesse do teste de esforço para o estudo, foi calculado pelo método indireto pela fórmula  $VO_{2\text{pico}} = 2,33 \times (\text{tempo em minuto}) + 9,48^{114}$ . O comprometimento funcional foi definido de acordo com os critérios de Weber<sup>113</sup>. O TC6’ seguiu a padronização da *American Thoracic Society*<sup>76</sup>, sendo a distância caminhada a variável de interesse para o estudo.

A análise estatística foi realizada no *software* SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A distribuição dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a transformação logarítmica das variáveis não-normais foi realizada quando necessário. Utilizou-se a regressão linear univariada para verificar os preditores do  $VO_{2\text{pico}}$ . As variáveis associadas ( $p < 0,25$ ) foram incluídas na análise multivariada. Neste estudo, o  $VO_{2\text{pico}}$  calculado pelo modelo da análise multivariada foi denominado de “ $VO_{2\text{pico}}$  predito”. Os testes de correlação de Pearson e o teste T para amostras pareadas foram os de escolha para verificar a correlação e as diferenças entre o  $VO_{2\text{pico}}$  avaliado e estimado. Adotou-se o nível de significância de 5%. Na análise de concordância entre  $VO_{2\text{pico}}$  observado e predito, realizou-se o diagrama de Bland-Altman<sup>115</sup> e a diferença entre as variáveis foram plotadas contra a média.

#### **4.3.3 Artigo III – “Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”**

Com o objetivo de verificar o comportamento do BDNF após esforço agudo, foram selecionados 30 pacientes com CCh no ambulatório do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP).

O cálculo amostral foi realizado pelo *software* G Power, versão 3.1.0, considerando-se erro alfa de 0,05 e poder estatístico de 95%. Baseando-se em estudo prévio<sup>102</sup>, o valor basal do BDNF foi de 30,9±6,4 ng/mL. Considerando-se um aumento de 15% nos níveis séricos de BDNF com o exercício nos pacientes com IC, independentemente da etiologia, obteve-se indicação de amostra de 28 indivíduos.

Os critérios de inclusão para a pesquisa incluíram o diagnóstico sorológico positivo para *T. cruzi*, achados clínicos e eletrocardiográficos compatíveis com a CCh, idade entre 30 e 60 anos e estilo de vida sedentário de acordo com o *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) (ANEXO C). Os critérios de exclusão foram a presença de doenças sistêmicas, cardíacas (por outras causas), comorbidades, uso de medicação antidepressiva e transfusão sanguínea nos últimos seis meses.

Os pacientes elegíveis para o estudo foram submetidos ao ecocardiograma, ao TECP e à coleta de sangue para posterior dosagem dos níveis séricos do BDNF. O ecocardiograma foi realizado de acordo com as diretrizes da *American Society of Echocardiography*<sup>112</sup>, conforme explicitado no estudo anterior. A variável de interesse para este estudo foi a FEVE.

O TECP foi realizado pelo protocolo de rampa e as variáveis de interesse foram o  $VO_{2\text{pico}}$  e a intensidade do esforço atingida. A intensidade do esforço baseou-se na frequência cardíaca máxima predita ( $220 - \text{idade}$ ) e classificada como moderada quando a frequência cardíaca máxima atingida era de 60 a 79% da máxima predita. Quando a frequência cardíaca atingiu valores acima de 80% da máxima prevista, o teste foi classificado como de alta intensidade.

A coleta sanguínea foi realizada antes e imediatamente após o teste de esforço. As amostras foram colocadas em um tubo de ensaio sem aditivos e deixadas à temperatura ambiente por 40 minutos e, a seguir, a 4°C por 30 minutos. O soro foi obtido por centrifugação a 2.000 rpm por 10 minutos a 4°C. Após a coleta, as amostras do soro foram armazenadas em um freezer a -80°C. O soro foi a opção de escolha porque a adição de anticoagulantes no plasma pode ativar as plaquetas<sup>116</sup>, importantes fontes de BDNF.

Para a dosagem do BDNF foi utilizado o ELISA sanduíche (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), que é o teste validado para tal verificação, sendo considerado de grande acurácia e grande reprodutibilidade<sup>117</sup> utilizando o kit e o protocolo da R&D Systems (Minneapolis, MN, USA). Todas as dosagens foram realizadas pelo mesmo pesquisador, com experiência na área.

Os dados foram analisados de acordo com a amostra total e pela estratificação dos grupos quanto à função sistólica (dilatado e não dilatado) e intensidade do esforço atingida (moderada e alta intensidade).

Na análise estatística, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e os dados demonstrados como média e desvio-padrão. A diferença entre os grupos (dilatado *versus* não dilatado e moderada *versus* alta intensidade) foi verificada pelo teste T para amostras independentes. Já a

diferença nos níveis séricos do BDNF pré e pós-exercício foi verificada pelos testes de Wilcoxon e teste T para amostras pareadas, conforme apropriado. Adotou-se o nível de significância de 5%.

#### **4.3.4 Artigo IV – “Prognostic value and factors related to serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease”**

Trata-se de estudo longitudinal que objetivou verificar os preditores ecocardiográficos funcionais do BDNF assim como seu valor prognóstico na cardiopatia chagásica. Foram selecionados 75 pacientes no ambulatório do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infeciosas e Parasitárias (CTR-DIP) de acordo com os seguintes critérios de inclusão: dois testes sorológicos positivos para *T. cruzi*, achados clínicos e eletrocardiográficos compatíveis com a cardiopatia chagásica e estilo de vida sedentário (não ter participado de nenhum programa de exercícios nos últimos seis meses). Foram excluídos os pacientes com cardiopatia por outras causas, doenças sistêmicas, comorbidades, os que realizaram transfusão sanguínea nos seis meses antecedentes ao estudo, em uso de medicação antidepressiva ou sem condições físicas de realizar os testes de esforço.

Os pacientes foram submetidos à coleta de sangue, ecocardiograma, teste ergométrico, Teste de Caminhada de Seis Minutos e avaliação da qualidade de vida pelo *Short-form of Health Survey (SF-36)*<sup>118</sup> (ANEXO C). Os métodos para coleta de sangue e posterior dosagem do BDNF sérico, a realização do ecocardiograma, do teste ergométrico e do TC6' foram anteriormente descritos nesta tese.

O SF-36, um questionário genérico de avaliação da qualidade de vida, é composto de 36 questões agrupadas em oito domínios (capacidade funcional, aspectos físicos, dor, estado geral da saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental). O questionário foi previamente validado para a língua portuguesa por Ciconelli *et al.*<sup>119</sup>.

A análise estatística foi realizada no *software* SPSS versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a análise descritiva apresentada em média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartilício ou número absoluto e porcentagem.

A diferença entre os grupos foi verificada pelos teste T para amostras independentes, chi-quadrado e Mann-Whitney (nível de significância de 5%). Os preditores do BDNF sérico (variável de distribuição não normal transformada em logBDNF) foram determinados pela regressão linear uni e multivariada. As variáveis que apresentaram p-valor <0,25 na análise univariada foram incluídas no modelo multivariado. A curva ROC (*receiver-operator curve*) for realizada para determinar o valor do BDNF sérico com melhor sensibilidade e especificidade em predizer evento adverso, definido como morte de causa cardíaca, transplante cardíaco e eventos cerebrovasculares. O ponto de corte encontrado foi utilizado na curva de Kaplan-Meier. A propriedade prognóstica do BDNF sérico foi verificada pela regressão de Cox uni e multivariada.

## 5. RESULTADOS

Os resultados da tese são apresentados em formato de artigo, seguindo as normas de publicação do periódico escolhido, com exceção das tabelas e figuras que se encontram junto ao texto para melhor análise dos resultados.

### 5.1 ARTIGO I

#### **FUNCTIONAL CAPACITY AND RISK STRATIFICATION BY THE SIX-MINUTE WALK TEST IN CHAGAS HEART DISEASE: COMPARISON WITH CARDIOPULMONARY EXERCISE TESTING**

Henrique Silveira Costa, MsC<sup>a</sup>, Marcia Maria Oliveira Lima, PhD<sup>b</sup>, Giovane Rodrigo de Sousa, MsC<sup>a</sup>, Aline Cristina de Souza, MsC<sup>a</sup>, Maria Clara Noman Alencar, MsC<sup>a</sup>, Maria Carmo Pereira Nunes, PhD<sup>a</sup>, Manoel Otavio Costa Rocha, PhD<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Postgraduate Course of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine, Medical School and Hospital das Clinicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

<sup>b</sup> Healthy and Biological Sciences Faculty, Physical Therapy School, Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM), Diamantina, Brazil.

#### **Correspondence to:**

Henrique Silveira Costa

Rua dos Guajajaras, 1172/407, Centro, 30.180-100, Belo Horizonte, Minas

Gerais, Brazil. Tel +55 31 32754205. E-mail: henriquesilveira@yahoo.com.br

The Cardiopulmonary Exercise Testing (CPET) is considered the gold standard in the assessment of functional capacity (FC). Peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ) and the minute ventilation/carbon dioxide production slope ( $VE/VCO_2$  slope) are the two most frequently assessed CPET variables in heart failure (HF) patients [1]. However, the test is expensive, which limits its applicability in clinical routine and the Six-minute Walk Test (6MWT) [2] may be an alternative approach. The effectiveness of the 6MWT is well established in overall HF patients and the distance walked showed a moderate to strong correlation with  $VO_{2peak}$  evaluated by CPET [3].

Chagas heart disease (CHD) represents an important cause of HF, with significant socioeconomic impact, worse prognosis compared to other cardiomyopathies and presents with some pathogenetic and clinical peculiarities [4]. In CHD patients, the 6MWT distance correlated with quality of life scores [5], hemodynamic and inflammatory markers [6] and improvements in the heart rate variability after aerobic training [7]. However, there are no available studies concerning CHD patients that verified the association between the distance walked during the 6MWT with CPET variables. Therefore, this study was designed to assess the correlation between the 6MWT distance and CPET variables in a wide spectrum of CHD, and also to determine an optimal cutoff value of 6MWT distance to identify functional impairment.

This cross-sectional study was approved by the institutional review committee and the subjects gave informed consent. Criteria for inclusion were the diagnosis of Chagas disease determined by positive serology, clinical, electrocardiographic or echocardiographic findings compatible with CHD, and sedentary lifestyle.

Exclusion criteria were the presence of systemic or heart disease by any other causes, associated co-morbidities and the inability to perform the exercise tests.

The overall study population comprised patients with dilated left ventricle with impaired ventricular systolic function (dilated group) and patients with normal left ventricular dimensions and function (non-dilated group). The CPET was performed on a treadmill ramp protocol and the 6MWT was guided by current guidelines [2].

Chi-square, Mann-Whitney or independent t-test, as appropriate, and Pearson correlation test were performed for data analysis, with significance levels at 0.001 and 0.05. A receiver-operator curve was constructed to determine the cutoff value of the 6MWT distance in the overall population with the best combination of sensitivity and specificity to identify functional impairment, defined as  $VO_{2peak}$  values below 20 mL.kg.min according to Webber classification [8].

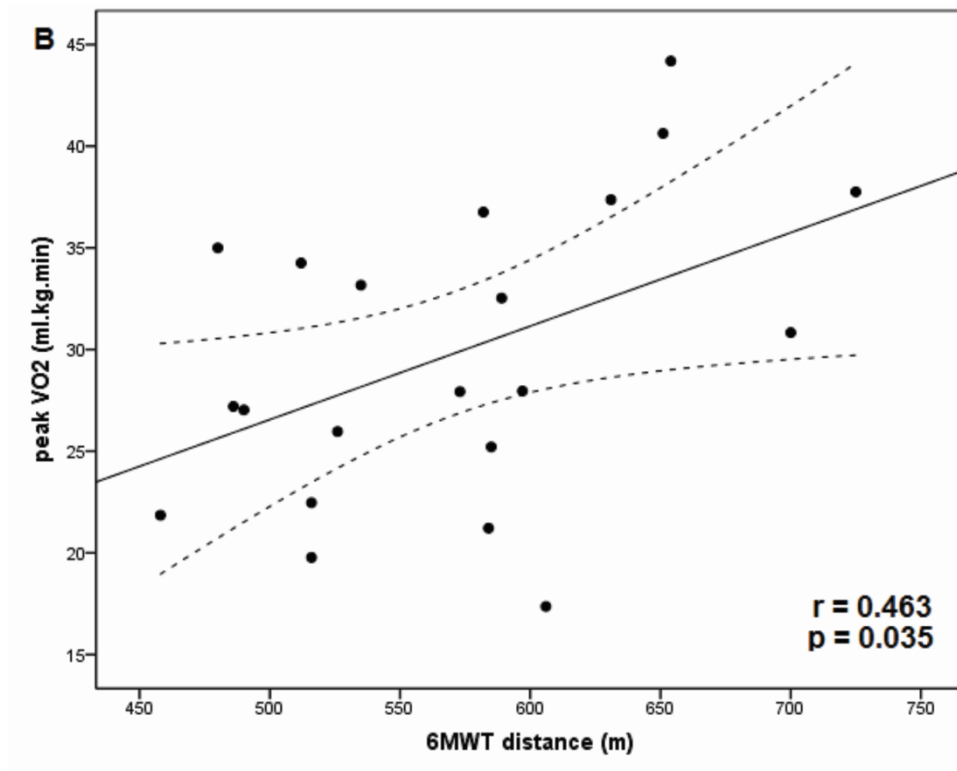
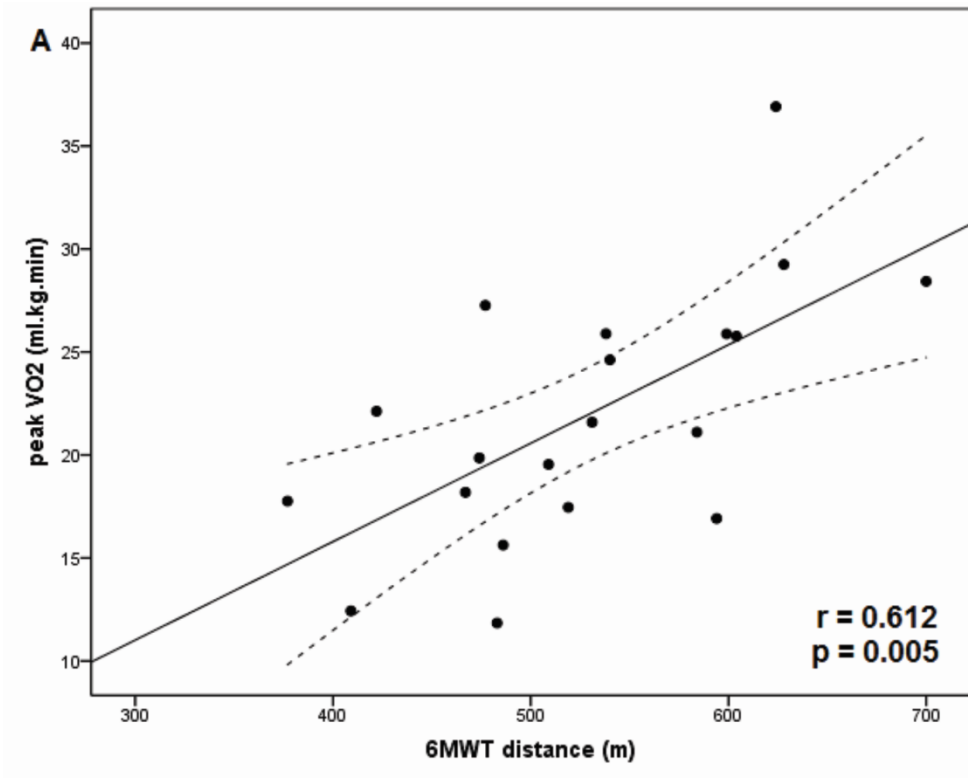
Forty-one CHD patients ( $47.8 \pm 8.3$  years, 28 males) were evaluated. In the overall study population, the 6MWT distance correlated with  $VO_{2peak}$  ( $r=0.586$ ;  $p<0.001$ ) but not with  $VE/VCO_2$  slope ( $r=-0.046$ ;  $p=0.776$ ). Echocardiography parameters, 6MWT distance and CPET variables of the sample stratified according to left ventricular systolic function are presented in Table 1.

**TABLE 1** – Characteristics of the CHD patients stratified according to left ventricular systolic function.

<b>Variable</b>	<b>Dilated group (n=20)</b>	<b>Non-dilated group (n=21)</b>	<b>p-value</b>
LVEF (%)	38.00 (32.25-41.00)	63.00 (60.00-67.75)	<b>0.001</b>
LVDd (mm)	66.50 (61.00-71.25)	48.00 (44.50-52.00)	<b>0.001</b>
NYHA (n)	I (5); II (10); III (5)	I (16); II (4); III (1)	<b>0.004</b>
6MWT distance (m)	508.25 ± 82.41	571.24 ± 73.36	<b>0.045</b>
VO <sub>2peak</sub> (ml.kg.min)	21.92 ± 6.16	29.83 ± 7.29	<b>0.001</b>
VE/VCO <sub>2</sub> slope	33.62 ± 5.65	30.26 ± 3.67	<b>0.029</b>
%HR predicted (%)	78.00 ± 13.87	87.89 ± 10.08	<b>0.020</b>

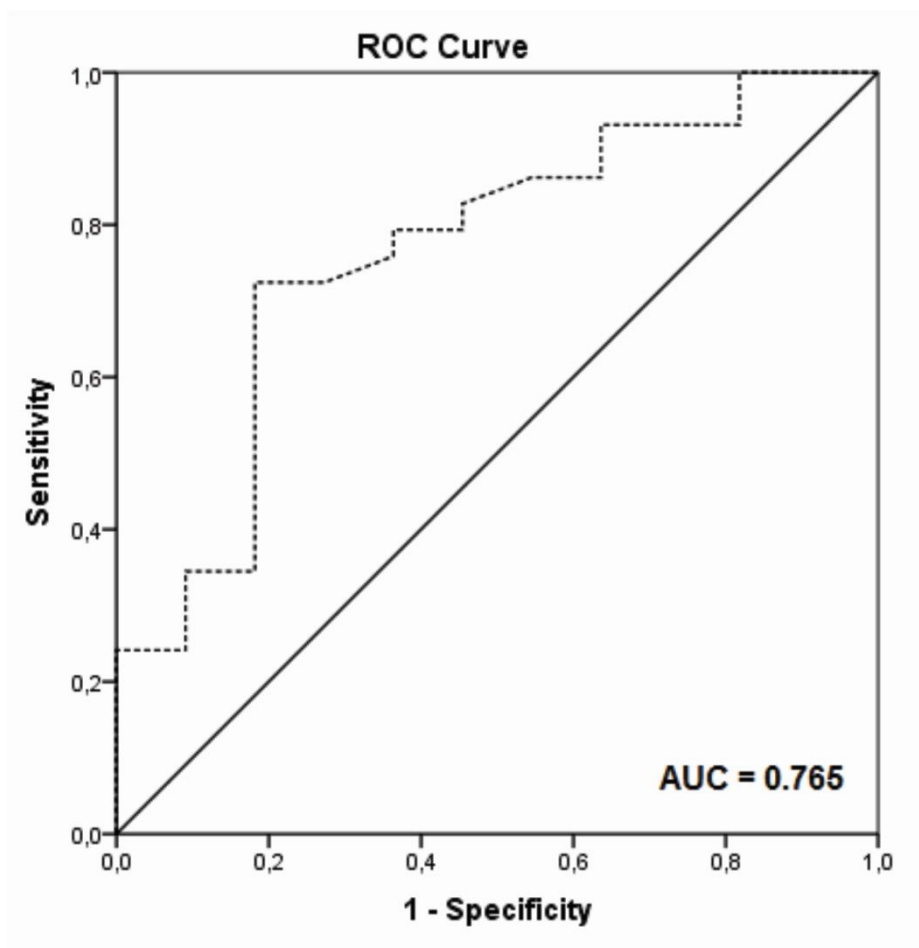
Data presented as mean and standard deviation (mean±SD), median (MD) and interquartile range (25-75%) or absolute number. P value is the difference between dilated and non-dilated group and the values highlighted in bold are statistically significant (p<0.05). LVEF = Left ventricular ejection fraction, LVDd = left ventricular end-diastolic diameter, NYHA = New York Heart Association, 6MWT distance = distance walked in Six-minute Walk Test, VO<sub>2peak</sub> = peak oxygen uptake, VE/VCO<sub>2</sub> slope = minute ventilation/carbon dioxide production slope, %HR predicted = percentage of maximal heart rate predicted achieved in the effort.

The 6MWT distance correlated with VO<sub>2peak</sub> in both dilated (n=20) and non-dilated group (n=21) (r=0.612; p=0.005 and r=0.463; p=0.035, respectively) (Figure 1). No correlation was found between the distance walked and the VE/VCO<sub>2</sub> slope in the dilated group (r=-0.322; p=0.166) and in the non-dilated group (r=-0.104; p=0.662).



**FIGURE 1.** Correlation between the distance walked in 6MWT and peak oxygen uptake (peak VO<sub>2</sub>) **(A)** in the dilated group and **(B)** in the non-dilated group.

The area under the ROC curve to identify a  $VO_{2peak}$  of, at least, 20 mL.kg.min by 6MWT distance was 0.765 (CI 95%: 0.596 - 0.933) (Figure 2). The optimal cut point value to identify functional impairment was a distance less than 522 m, with sensitivity and specificity of 72.4% and 81.8%, respectively.



**FIGURE 2.** Receiver-operating characteristic (ROC) curve representing the accuracy of distance walked in 6MWT to identify a  $VO_{2peak}$  of, at least, 20 mL.kg.min.

To the best of our knowledge, this is the first study that demonstrated the association between the 6MWT distance and CPET variables in CHD patients. The main findings are (1) the significant correlation between the 6MWT distance and  $VO_{2peak}$  in CHD patients, (2) the stronger correlation between 6MWT distance

and  $VO_{2peak}$  in CHD patients with impairment of ventricular function than those with preserved systolic function and (3) the 6MWT distance of 522 m is the optimal cutoff value to identify patients with functional impairment. These results have important clinical meaning in the setting of Chagas disease, since endemic areas are generally poor, have few resources and the maximal exercise test may not be available.

Aiming to verify the correlation between the 6MWT distance and  $VO_{2peak}$  in HF patients, a recent systematic review [3] showed that most of the analyzed studies found a moderate to strong correlation between these variables. The moderate correlation found in the present study between the distance walked and  $VO_{2peak}$  confirms the usefulness of the 6MWT in the evaluation of FC in HF patients regardless of etiology. Additionally, our results suggest that the 6MWT is better used when evaluating FC of patients with more severely impaired ventricular function. We hypothesized that the 6MWT methodology can underestimate the FC of patients with better systolic function. At 6MWT, patients are instructed to walk as fast as possible but without running [2] and it can be a limiting factor in the evaluation of patients with preserved systolic function, generally with higher FC. This fact does not occur during the CPET, which is a maximal test and the patient is encouraged to run if possible.

Recently, a previous study reported that the  $VE/VCO_2$  slope was the only variable assessed by CPET considered an independent predictor of survival in CHD patients [9]. The present study found no correlation between this variable and the 6MWT distance but, unlike the  $VO_{2peak}$ , the  $VE/VCO_2$  slope is more related to the central function than to patient effort [10], which possible explains the lack of correlation between these variables.

We also demonstrated that the 6MWT distance has good sensitivity and specificity in identifying patients with functional impairment. Other authors [11] have shown the effectiveness of the 6MWT in screening patients who were referred for heart transplantation with good sensitivity (80%) and specificity (83%). Thus, the 6MWT appears to be a simple, inexpensive and useful test for risk stratification based on functional impairment in the overall HF patients and also due to CHD.

In conclusion, the 6MWT appears to be an alternative tool in the assessment of FC in CHD patients and can also identify patients who have functional impairment with impact on the management of these patients.

This work was supported by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq). The authors of this manuscript have certified that they comply with the Principles of Ethical Publishing in the International Journal of Cardiology.

## REFERENCES

[1] Guazzi M, Myers J, Abella J, Peberdy MA, Bensimhon D, Chase P, et al. The added prognostic value of ventilatory efficiency to the Weber classification system in patients with heart failure. *International journal of cardiology*. 2008;129:86-92.

[2] ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:111-7.

[3] Pollentier B, Irons SL, Benedetto CM, Dibenedetto AM, Loton D, Seyler RD, et al. Examination of the six minute walk test to determine functional capacity in people with chronic heart failure: a systematic review. *Cardiopulm Phys Ther J*. 2010;21:13-21.

- [4] Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2007;5:727-43.
- [5] Dourado KC, Bestetti RB, Cordeiro JA, Theodoropoulos TA. Assessment of quality of life in patients with chronic heart failure secondary to Chagas' cardiomyopathy. *International journal of cardiology.* 2006;108:412-3.
- [6] Sousa L, Botoni FA, Britto RR, Rocha MO, Teixeira AL, Jr., Teixeira MM, et al. Six-minute walk test in Chagas cardiomyopathy. *International journal of cardiology.* 2008;125:139-41.
- [7] Lima MM, Nunes MC, Nascimento B, Costa HS, Sousa LA, Teixeira AL, et al. Improvement of the functional capacity is associated with BDNF and autonomic modulation in Chagas disease. *International journal of cardiology.* 2012.
- [8] Weber KT, Kinasevitz GT, Janicki JS, Fishman AP. Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic cardiac failure. *Circulation.* 1982;65:1213-23.
- [9] Ritt LE, Carvalho AC, Feitosa GS, Pinho-Filho JA, Andrade MV, Feitosa-Filho GS, et al. Cardiopulmonary exercise and 6-min walk tests as predictors of quality of life and long-term mortality among patients with heart failure due to Chagas disease. *International journal of cardiology.* 2013;168:4584-5.
- [10] Arena R, Myers J, Aslam SS, Varughese EB, Peberdy MA. Peak VO<sub>2</sub> and VE/VCO<sub>2</sub> slope in patients with heart failure: a prognostic comparison. *American heart journal.* 2004;147:354-60.
- [11] Morales FJ, Martinez A, Mendez M, Agarrado A, Ortega F, Fernandez-Guerra J, et al. A shuttle walk test for assessment of functional capacity in chronic heart failure. *American heart journal.* 1999;138:291-8.

## 5.2 ARTIGO II

### **PREDICTION OF PEAK OXYGEN UPTAKE IN PATIENTS WITH CHAGAS HEART DISEASE: VALUE OF THE SIX-MINUTE WALK TEST.**

**Running head:** Six-minute Walk Test in Chagas heart disease

Henrique Silveira Costa, MsC<sup>a</sup>, Márcia Maria Oliveira Lima, PhD<sup>b</sup>, Maria Clara Noman Alencar, PhD<sup>a</sup>, Giovane Rodrigo Sousa, MsC<sup>a</sup>, Pedro Henrique Scheidt Figueiredo, MsC<sup>b</sup>, Maria Carmo Pereira Nunes, PhD<sup>a</sup>, Antônio Luiz Ribeiro, PhD<sup>a</sup>, Manoel Otávio Costa Rocha, PhD<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Postgraduate Course of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine, Medical School and Hospital das Clinicas of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

<sup>b</sup> Healthy and Biological Sciences Faculty, Physical Therapy School, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Brazil.

#### **Correspondence to:**

Manoel Otávio da Costa Rocha, MD, PhD

Av. Professor Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, 30.130-100, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Tel +55 31 34099746, Fax: +55 31 34099437. E-mail:

rochamoc@terra.com.br

## ABSTRACT

**Introduction:** Chagas heart disease (CHD) patients present progressive exercise intolerance. The Six-minute Walk Test (6MWT) has shown great applicability in this population and a model that predicts peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ) based on distance walked is needed in the accurate assessment of functional capacity, especially in resource-limited areas. **Objective:** To derive a model that predicts the  $VO_{2peak}$  based on the 6MWT distance and clinical variables and to compare the predicted values with observed  $VO_{2peak}$  in CHD patients. **Methods:** Eighty-one CHD patients (NYHA I-III; 63% males), aged 48.6 (46.7-50.4) years were selected and underwent echocardiography, treadmill exercise testing and 6MWT. The model was derived from the backward multivariate regression performed with the univariate predictors of  $VO_{2peak}$ . Bland-Altman diagram was used to measure the agreement between observed and predicted  $VO_{2peak}$ . **Results:** Univariate analysis showed that age, gender, body mass index, heart rate at rest, NYHA functional class, 6MWT distance, rate-perceived exertion were associated with  $VO_{2peak}$ . After the multivariate analysis, the  $VO_{2peak}$  predicted by the equation  $VO_{2peak} = 53.43 + (1.35 \times \text{gender}) - (5.59 \times \text{NYHA}) + (0.01 \times \text{6MWT distance}) - (0.29 \times \text{age}) - (0.035 \times \text{BMI})$  showed strong correlation ( $r=0.81$ ;  $p<0.001$ ) with observed  $VO_{2peak}$ , without difference between these values ( $p=0.223$ ) and with  $r^2 = 0.61$ . The agreement analysis showed that only five values (6.1%) were outside the range of agreement. **Conclusion:**  $VO_{2peak}$  can be predicted in CHD patients by 6MWT and others simple to measure clinical variables with potential value in the assessment of functional capacity in these patients.

**Keywords:** Chagas disease, exercise capacity, exercise testing; peak oxygen uptake, six-minute walk test.

Chagas disease, an infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, affects about 10 million people worldwide and another 100 million are at risk of becoming infected<sup>1</sup>. In recent decades, changes in the epidemiological profile of Chagas disease has been observed leading to urbanization and globalization of the infection<sup>2-4</sup> with increasing prevalence in North America<sup>5,6</sup> and Europe<sup>7</sup>.

Heart disease is the most severe clinical form of the Chagas disease<sup>8</sup> leading to exercise intolerance, especially in advanced stages of the disease. However, Chagas disease patients may have functional impairment even in the presence of preserved left ventricular ejection fraction<sup>9</sup>.

Functional capacity is usually assessed by peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ) by maximal exercise test in heart disease patients<sup>10,11</sup>. However, the maximal exercise test may not be available in endemic areas for Chagas disease, where usually have poor infrastructure and limited technological resources. An alternative approach is the Six-minute Walk Test (6MWT), a simple, inexpensive and effective tool in assessing functional capacity in CHD patients with a good correlation with  $VO_{2peak}$ <sup>12</sup>.

In advanced heart failure patients, previous study<sup>13</sup> reported multivariate regression equations to predict  $VO_{2peak}$  by 6MWT distance and other clinical variables. Predicting the  $VO_{2peak}$ , the 6MWT could improve the ability to evaluate functional compared to distance walked during the test alone. However, the equations proposed may not be appropriate for Chagas heart disease (CHD) whereas these patients have worse prognosis compared to other cardiomyopathies and presents with some pathogenetic and clinical peculiarities<sup>14</sup> such as the severity of arrhythmias, myocardial fibrosis and elevated frequency of thromboembolism.

Thus, the present study was designed to derive a regression equation that can determine the  $VO_{2peak}$  by 6MWT and clinical variables in CHD patients and to compare the predicted values by the regression equation with observed  $VO_{2peak}$ .

## **METHODS**

This cross-sectional study was conducted at the Referral Outpatient Center for Chagas Disease at the Hospital das Clinicas of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brazil. The research was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki<sup>15</sup> and was approved by institutional ethics committee. All the patients gave their written informed consent prior participating in the study. Criteria for inclusion were the diagnosis of Chagas disease determined by positive specific serology for *Trypanosoma cruzi*, clinical, electrocardiographic or echocardiographic findings compatible with CHD<sup>16</sup>, stable clinical condition and not performing regular exercise in the six months preceding the study. Exclusion criteria were the presence of systemic or heart disease by any other causes and associated co-morbidities.

The sample comprised patients with a wide spectrum of CHD presenting different degrees of cardiac involvement. The previously selected patients underwent clinical evaluation, echocardiography, symptom-limited treadmill exercise test and 6MWT. The treadmill exercise test and the 6MWT were performed on alternate days with a maximum interval of one week between them. The investigators were blinded to the tests results.

Echocardiography was performed according to recommendations of the American Society of Echocardiography<sup>17</sup> by one investigator who was blinded to

the clinical evaluation of the patients. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was obtained by modified Simpson's rule. The systolic dysfunction was defined as LVEF value less than or equal to 50%<sup>18</sup>. Diastolic function was assessed by pulsed-wave Doppler examination of mitral inflow, and by tissue Doppler imaging (TDI). Early diastolic velocity (e') at the medial border of the mitral annulus was obtained and the ratio between peak mitral E and e' (E/e') was calculated.

After the echocardiogram was obtained, a symptom-limited exercise test was performed on a treadmill (Digistress Pulsar, Micromed, Brazil) using a standard Bruce protocol. A physician, who was unaware of the echocardiographic results, was present during all the studies to encourage maximal exertion. On the day of the treadmill test, patients received their usual cardiac medications and were requested to abstain from food, coffee, cigarettes, and vigorous physical activity for at least 3 h before. A 12-lead ECG was continuously monitored and recorded every 1 min. The primary endpoint was maximal exercise capacity defined by  $VO_{2peak}$ , expressed in mL.kg.min, and calculated indirectly by the formula  $VO_{2peak} = 2.33 (\text{time in min}) + 9.48$ <sup>19</sup>. Functional impairment was defined according to Webber criteria<sup>20</sup> ( $VO_{2peak}$  value less than 20 mL.kg.min).

The 6MWT was guided by current guidelines<sup>21</sup>. Patients were instructed about the right to interrupt the test in case of discomfort or other complications. Briefly, the subjects were instructed to walk as fast as possible in a corridor of 30 m. It was used standardized words of encouragement every minute. Two tests were applied to each subject, with 15-min interval between them. The rate-perceived exertion (RPE) by the patient during the test was measured by the modified Borg scale<sup>22</sup>. The primary endpoint was the longest 6MWT distance, expressed in meters.

G Power software, version 3.1.7, was used to sample size calculation. Considering the medium effect size of 0.15, an alpha error of 0.05, statistical power of 80% and the presence of five predictors of  $VO_{2peak}$ , a sample of 75 patients was obtained. Data were analyzed with SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The normal distribution of data was verified by Kolmogorov-Smirnov test and logarithm transformation of non-normal was performed for subsequent analysis when necessary. Descriptive analysis was shown as mean and 95% confidence interval (95% CI) or absolute number and percentage.

Univariate linear regression analysis was performed to determine the factors that were associated with  $VO_{2peak}$ . Variables that were found to be significantly associated ( $p < 0.250$ ) were included in the backward multivariate linear regression analysis.

Pearson correlation test and paired T-test were performed to verify the correlation and differences between observed  $VO_{2peak}$  and predicted  $VO_{2peak}$ . The significance level of 0.05 was considered statistically significant.

The agreement analysis between observed and predicted  $VO_{2peak}$  was verified by Bland-Altman method and the differences values were plotted against their mean.

## **RESULTS**

A total of 81 CHD patients were evaluated. Demographic characteristics, echocardiographic and functional variables in the overall study population are shown in Table 1.

**TABLE 1** - Characteristics of the sample (n=81).

<b>Variables</b>	<b>Mean (95% CI)</b>
Age (years)	48.6 (46.7 - 50.4)
Male gender (%)	51 (63%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.4 (24.4 – 26.4)
NYHA functional class	
I	46 (56.8%)
II	29 (35.8%)
III	6 (7.4%)
6MWT distance (m)	535.7 (516.5 – 554.8)
VO <sub>2peak</sub> (mL.kg.min)	28.1 (26.3 – 29.8)
Functional impairment	12 (15%)
METs	7.9 (7.4 – 8.4)
%HR achieved	79.5 (76.5 – 82.5)
LVEF (%)	43.7 (40.4 – 47.0)
Systolic dysfunction	37 (46%)
LVDd (mm)	60.3 (58.1 – 62.6)
LVSd (mm)	50.8 (48.7 – 52.9)
E/e' ratio	10.9 (9.9 – 11.9)

*Data presented as mean and 95% confidence interval (95% CI) or number (percentage). BMI = body mass index; NYHA = New York Heart Association functional class; 6MWT = six-minute walk test; VO<sub>2peak</sub> = peak oxygen uptake; METs = metabolic equivalent task; %HR achieved = percentage of maximum heart rate achieved at exercise test; LVEF = left ventricular ejection fraction; LVDd = left ventricular end-diastolic diameter; LVSd = left ventricular end-systolic diameter; E/e' ratio = ratio of the early diastolic transmitral flow velocity to early diastolic mitral annular velocity.*

There was a significant correlation between VO<sub>2peak</sub> and 6MWT distance (r=0.527; p<0.001). In the univariate model, VO<sub>2peak</sub> was associated with age, gender, body mass index, heart rate at rest, NYHA functional class, 6MWT distance and rate-perceived exertion.

**TABLE 2** – Univariate predictors of VO<sub>2peak</sub> in CHD patients (n=81).

Variables	r	r <sup>2</sup>	p-value
Age (years)	-0.490	0.225	<0.001
Gender	0.283	0.080	0.010
log BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0.333	0.111	0.002
NYHA functional class	-0.667	0.445	<0.001
SBP (mmHg)	0.024	0.001	0.830
log DBP (mmHg)	0.044	0.002	0.395
HR (bpm)	0.190	0.036	0.089
6MWT distance (m)	0.527	0.278	<0.001
6MWT RPE (score)	0.179	0.032	0.111

*r* = correlation coefficient; *r*<sup>2</sup> = coefficient of determination; Log = logarithm; BMI = body mass index; NYHA = New York Heart Association functional class; SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure; HR = heart rate; bpm = beats per minute; 6MWT = six-minute walk test; 6MWT RPE = rate perceived exertion after the six-minute walk test. The variables with *p* < 0.250 were considered in the multivariate analysis.

In the final multivariable model, gender, NYHA functional class, 6MWT distance, age and body mass index remained as independent predictors of VO<sub>2peak</sub> (TABLE 3). The predicted VO<sub>2peak</sub> is represented by the model: VO<sub>2peak</sub> = 53.43 + (1.35 x gender; coded 0 for female and 1 for male) – (5.59 x NYHA) + (0.01 x 6MWT distance) – (0.29 x age) – (0.035 x BMI); *r*<sup>2</sup>=0.61, *p*<0.001.

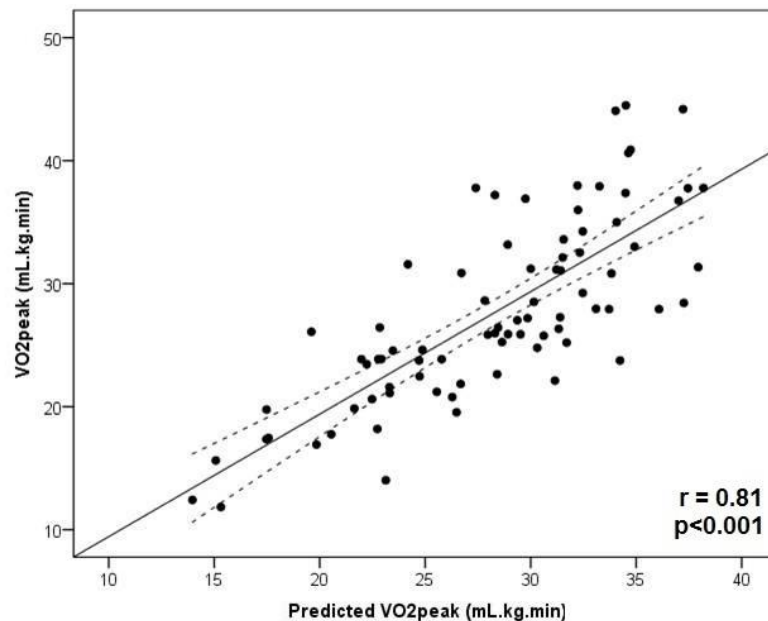
**TABLE 3** - Multivariate linear regression analysis of factors that may contribute of VO<sub>2peak</sub>.

Variables	Unstandardized coefficient (B)*	Standardized coefficient (β) <sup>†</sup>	p-value
Constant	53.43	-	<0.001
Gender	1.35	0.09	0.047
NYHA class	-5.59	-0.48	<0.001
6MWT distance	0.01	0.10	0.024
Age	-0.29	-0.32	<0.001
BMI	-0.35	-0.20	0.011

Dependent variable: VO<sub>2peak</sub> (mL.kg.min). Abbreviations as in Table 1.

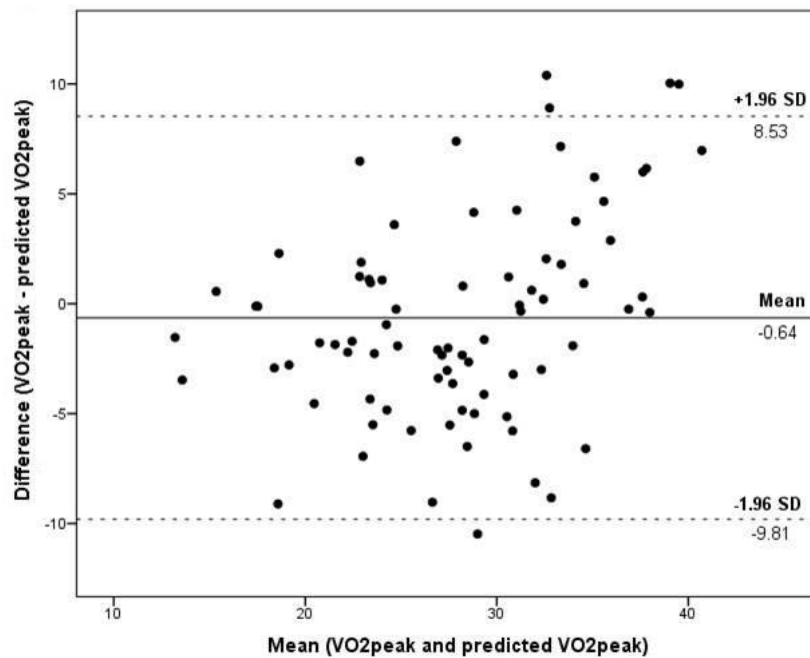
\* B: slope of the regression line for each variable and exercise capacity, expressed per unit of each variable. <sup>†</sup> β: standardized slope in the same units of measure.

A strong correlation between observed and predicted  $VO_{2peak}$  was verified ( $r=0.81$ ,  $p<0.001$ ) (FIGURE 1) and there was no significant difference between the values ( $p=0.223$ ).



**FIGURE 1:** Correlation analysis between observed and predicted  $VO_{2peak}$  by the model.

The agreement analysis showed that only five pairs (6.1%) of  $VO_{2peak}$  lied outside the range of the limits of agreement and the mean bias was close to zero (mean  $-0.64\pm 4.68$  mL.kg.min) (FIGURE 2).



**FIGURE 2:** Bland-Altman diagram showing the agreement between observed and predicted  $VO_{2peak}$ ; mean  $-0.64 \pm 4.68$  mL.kg.min).

## DISCUSSION

The present study is the first that derived a model to predict  $VO_{2peak}$  in CHD patients based on the 6MWT distance and clinical variables. The predicted  $VO_{2peak}$  by the equation  $VO_{2peak} = 53.43 + (1.35 \times \text{gender}) - (5.59 \times \text{NYHA}) + (0.01 \times \text{6MWT distance}) - (0.29 \times \text{age}) - (0.035 \times \text{BMI})$  showed a strong correlation with observed  $VO_{2peak}$  ( $r=0.81$ ;  $p<0.001$ ), without difference between these values ( $p=0.223$ ) and with  $r^2 = 0.61$ .

The 6MWT distance explained only 28% of the variance in  $VO_{2peak}$  but the addition of age, gender, body mass index and NYHA functional class to the regression model using 6MWT distance substantially improves the ability to predict  $VO_{2peak}$ , as demonstrated by an explained variance of 61%. The prediction of  $VO_{2peak}$  by simple and easily measured clinical parameters as the 6MWT and

clinical data can assist in more accurate evaluation of functional capacity in areas where the maximal exercise test is usually not available, enabling monitoring the functional status of CHD patients as well as their risk stratification based on functional impairment.

Functional impairment is a common clinical finding in heart failure patients<sup>18</sup>. Cahalin et al.<sup>13</sup> proposed regression equations to predict the  $VO_{2peak}$  in 45 patients ( $49\pm 8$  years) undergoing cardiac transplant. The multivariable analysis derived a model that includes 6MWT distance, age, weight, height and double product and the  $r^2$  of this model was 0.65. Moreover, the predicted  $VO_{2peak}$  had a curvilinear correlation with observed  $VO_{2peak}$  (no statistical data). The present study showed similar results in a model that includes 6MWT distance, age, gender, body mass index and NYHA functional class, with  $r^2$  of 0.61 and a strong correlation between predicted and observed  $VO_{2peak}$ . In addition, the presence of symptoms by NYHA functional class and submaximal capacity evaluated by 6MWT are also independent predictors of  $VO_{2peak}$  in CHD patients.

The correlation between 6MWT distance and  $VO_{2peak}$  in the present study was more modest than that found by Cahalin et al.<sup>13</sup>. ( $r=0.53$  versus  $r=0.64$ , respectively) in patients with advanced heart failure. One possible reason for this difference was explained by Costa et al.<sup>12</sup>, who found that the 6MWT is better used in patients with more severely impaired functional capacity. An alternative approach to improve the correlation between tests is the use of words of encouragement during the 6MWT<sup>23</sup>, since patients tend to select and maintain a comfortable speed during the test<sup>24</sup> even if instructed to walk as fast as possible.

In the agreement analysis, the mean bias between the observed and predicted  $VO_{2peak}$  was close to zero, but the limits of agreement ( $\pm 1.96$  SD) was 9.17

mL.kg.min. However, the clinical course of CHD is diverse<sup>25</sup> and heterogeneous results in the assessment of  $VO_{2peak}$  are expected. Fialho et al.<sup>26</sup> evaluated 18 sedentary CHD patients (72% females; NYHA I/II; LVEF=56%) by Cardiopulmonary Exercise Testing and verified that the  $VO_{2peak}$  varied from 9.32 to 33.43 mL.kg.min, which represents the clinical diversity of the disease also in functional capacity.

Echocardiographic variables were not used in the model. Firstly, the main objective of the present study was to derive a regression model that could be easily applied without sophisticated equipment. Secondly, left ventricular ejection fraction, one of the most important prognostic factors in Chagas disease<sup>8</sup>, had no significant correlation with  $VO_{2peak}$  in CHD patients according to previous studies<sup>27,28</sup>. Furthermore, left ventricular diastolic dysfunction was not associated with functional capacity in community-dwelling ambulatory older adults after adjustment for age, body mass index and cardiovascular morbidity<sup>29</sup>.

Study limitations include the small number of patients with severe functional impairment. Despite not having been reported the performance of regular physical activity in the last months, patients with Chagas disease often come from impoverished, poorly-educated backgrounds and work in physically demanding jobs<sup>30</sup>, which could explain the high  $VO_{2peak}$  values. Moreover, the evaluation of exercise capacity was performed by conventional treadmill exercise testing and not by Cardiopulmonary Exercise Testing. However, it has been established that the indirect assessment of the  $VO_{2peak}$  is highly correlated with the direct measurement<sup>31</sup>.

Despite these limitations, it appears that the 6MWT, in association with age, gender, body mass index and NYHA functional class, can be used to estimate

$VO_{2peak}$  in CHD patients without the need for sophisticated equipment such as exercise testing and echocardiography. However, we emphasize that the proposed model has the basic purpose of estimating functional capacity and exercise testing should be performed when available to verify the presence of ischemic events and arrhythmias during exercise, not rare in Chagas disease patients<sup>32,33</sup>.

In conclusion, peak oxygen uptake can be easily predicted by 6MWT and clinical data in Chagas heart disease patients. The model has a good performance to predict  $VO_{2peak}$  without additional information and has potential value in the assessment of functional capacity in these patients in resource-limited areas.

## **Funding**

This work was supported by: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasília, Brazil) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brazil).

## **REFERENCES**

1. WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. First WHO report on neglected tropical diseases. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44440/1/9789241564090\\_](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44440/1/9789241564090_), 2010.
2. Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL, Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of C. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *Journal of the American College of Cardiology* 2013;62:767-776.
3. Pinto Dias JC. Human chagas disease and migration in the context of globalization: some particular aspects. *Journal of Tropical Medicine* 2013;2013:789758.

4. Gascon J, Vilasanjuan R, Lucas A. The need for global collaboration to tackle hidden public health crisis of Chagas disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2014;12:393-395.
5. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica* 2010;115:22-27.
6. Garcia MN, Murray KO, Hotez PJ, Rossmann SN, Gorchakov R, Ontiveros A, Woc-Colburn L, Bottazzi ME, Rhodes CE, Ballantyne CM, Aguilar D. Development of chagas cardiac manifestations among Texas blood donors. *The American Journal of Cardiology* 2015;115:113-117.
7. Requena-Mendez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, Gascon J, Munoz J. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected Tropical Diseases* 2015;9:e0003540.
8. Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nature Reviews Cardiology* 2012;9:576-589.
9. Mady C, Ianni BM, Arteaga E, Salemi VM, de Carvalho Frimm C. Maximal functional capacity in patients with Chagas' cardiomyopathy without congestive heart failure. *Journal of Cardiac Failure* 2000;6:220-224.
10. Witte KK, Clark AL. Why does chronic heart failure cause breathlessness and fatigue? *Progress in Cardiovascular Diseases* 2007;49:366-384.
11. Ingle L. Prognostic value and diagnostic potential of cardiopulmonary exercise testing in patients with chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure* 2008;10:112-118.
12. Costa HS, Lima MM, de Sousa GR, de Souza AC, Alencar MC, Nunes MC, Rocha MO. Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing. *International Journal of Cardiology* 2014;177:661-663.
13. Cahalin LP, Mathier MA, Semigran MJ, Dec GW, DiSalvo TG. The six-minute walk test predicts peak oxygen uptake and survival in patients with advanced heart failure. *Chest* 1996;110:325-332.
14. Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2007;5:727-743.
15. World Medical A. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Jama* 2013;310:2191-2194.

**16.** Andrade JP, Marin-Neto JA, Paola AAV, Vilas-Boas F, Oliveira GMM, Bacal F, Bocchi EA, Almeida DR, Fragata Filho AA, Moreira MCV, Xavier SS, Oliveira Junior WA, Dias JCP. I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2011;97:01-48.

**17.** Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ, Chamber Quantification Writing G, American Society of Echocardiography's G, Standards C, European Association of E. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2005;18:1440-1463.

**18.** Writing Committee M, Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Jr., Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL, American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice G. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation* 2013;128:e240-327.

**19.** American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Exercise Prescription. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2006.

**20.** Weber KT, Kinasewitz GT, Janicki JS, Fishman AP. Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic cardiac failure. *Circulation* 1982;65:1213-1223.

**21.** ATS. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2002;166:111-117.

**22.** Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1982;14:377-381.

**23.** Cahalin L, Pappagianopoulos P, Prevost S, Wain J, Ginns L. The relationship of the 6-min walk test to maximal oxygen consumption in transplant candidates with end-stage lung disease. *Chest* 1995;108:452-459.

**24.** Morales FJ, Martinez A, Mendez M, Agarrado A, Ortega F, Fernandez-Guerra J, Montemayor T, Burgos J. A shuttle walk test for assessment of functional capacity in chronic heart failure. *American Heart Journal* 1999;138:291-298.

- 25.** Rassi A, Jr., Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation* 2007;115:1101-1108.
- 26.** Fialho PH, Tura BR, Sousa AS, Oliveira CR, Soares CC, Oliveira JR, Souza MV, Coelho MP, Souza FC, Cunha AB, Kopiler DA. Effects of an exercise program on the functional capacity of patients with chronic Chagas' heart disease, evaluated by cardiopulmonary testing. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012;45:220-224.
- 27.** Lima MM, Nunes MC, Rocha MO, Beloti FR, Alencar MC, Ribeiro AL. Left ventricular diastolic function and exercise capacity in patients with Chagas cardiomyopathy. *Echocardiography* 2010;27:519-524.
- 28.** Nunes Mdo C, Beloti FR, Lima MM, Barbosa MM, Pinto Filho MM, de Barros MV, Rocha MO. Functional capacity and right ventricular function in patients with Chagas heart disease. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* 2010;11:590-595.
- 29.** Perry GJ, Ahmed MI, Desai RV, Mujib M, Zile M, Sui X, Aban IB, Zhang Y, Tallaj J, Allman RM, Aronow WS, Fleg JL, Ahmed A. Left ventricular diastolic function and exercise capacity in community-dwelling adults  $\geq 65$  years of age without heart failure. *The American Journal of Cardiology* 2011;108:735-740.
- 30.** de Alencar MC, Rocha MO, Lima MM, Costa HS, Sousa GR, Carneiro Rde C, Silva GC, Brandao FV, Kreuser LJ, Ribeiro AL, Nunes MC. Heart rate recovery in asymptomatic patients with Chagas disease. *PloS One* 2014;9:e100753.
- 31.** Swain DP, Parrott JA, Bennett AR, Branch JD, Dowling EA. Validation of a new method for estimating VO<sub>2</sub>max based on VO<sub>2</sub> reserve. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2004;36:1421-1426.
- 32.** Rocha MOC, Nunes MCP, Ribeiro AL. Morbidity and prognostic factors in chronic chagasic cardiopathy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009;104:159-166.
- 33.** Costa HS, Nunes MC, Souza AC, Lima MM, Carneiro RB, Sousa GR, Rocha MO. Exercise-induced ventricular arrhythmias and vagal dysfunction in Chagas disease patients with no apparent cardiac involvement. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2015;48:175-180.

### 5.3 ARTIGO III

## EFFECT OF ACUTE AEROBIC EXERCISE ON SERUM BDNF LEVELS IN PATIENTS WITH CHAGAS HEART DISEASE

Henrique Silveira Costa, MsC<sup>1</sup>, Márcia Maria Oliveira Lima, PhD<sup>2</sup>, Marconi Gomes Silva, MD<sup>1</sup>, Maria Clara Noman Alencar, MsC<sup>1</sup>, Maria Carmo Pereira Nunes, PhD<sup>1</sup>, Elizabeth Ribeiro Silva Camargos, PhD<sup>3</sup>, Patrícia Massara Martinelli, PhD<sup>3</sup>, Manoel Otávio Costa Rocha, PhD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Postgraduate Course of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine, Medical School and Hospital das Clinicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

<sup>2</sup>Healthy and Biological Sciences Faculty, Physical Therapy School, Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Morphology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

#### **Correspondence to:**

Henrique Silveira Costa

Rua dos Guajajaras, 1172/407, Centro, 30.180-100, Belo Horizonte, Minas

Gerais, Brazil. Tel +55 31 32754205. E-mail: henriquesilveira@yahoo.com.br

Chagas disease is an important endemic disease in Latin America and an emerging disease in non-endemic countries [1]. Chagas heart disease (CHD), the most important clinical manifestation of this infection, causes heart failure, complex arrhythmias, thromboembolism and sudden death [2]. A diffuse damage in the autonomic nervous system is a pathological feature commonly present in variable degrees in patients with CHD [3].

The neurotrophin Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) plays important functions in the nervous system, such as neuronal survival and maintenance, synaptic plasticity and memory processing [4]. Moreover, BDNF has an important role in metabolic events [5], being susceptible to regulation by physical activity. Recently, it has been demonstrated that Chagas disease patients exhibit higher serum BDNF levels compared to healthy subjects [6]. Interestingly, in patients with Chagas cardiomyopathy underwent 12-week- aerobic training, the best functional capacity was associated to higher serum BDNF levels [7]. However, the acute effect of aerobic exercise on the BDNF levels in CHD remains unknown, as well as its relationship to ventricular dysfunction and exercise intensity.

Patients were recruited from an Outpatient Reference Center for Chagas Disease in the state of Minas Gerais, Brazil. The study was approved by the institutional review committee and the subjects gave informed consent.

Inclusion criteria were the diagnosis of Chagas disease determined by positive serology, clinical, electrocardiographic or echocardiographic findings compatible with CHD, age between 30 and 60 years and sedentary lifestyle according to the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). Exclusion criteria were the presence of systemic or heart disease by any other causes or co-morbidities, the

use of cardiac pacemaker, blood transfusion within six months and the use of antidepressant medication.

All patients underwent clinical evaluation, echocardiography, the Cardiopulmonary Exercise Testing (CPET) and blood sampling for measurement of serum BDNF. Patients were classified into 2 groups: dilated cardiomyopathy characterized by the echocardiographic finding of a dilated left ventricle with impaired ventricular systolic function, and non-dilated heart disease defined as a normal left ventricular dimensions and function. The CPET, gold standard in the assessment of functional capacity, was performed on a treadmill ramp protocol and the intensity of exercise was determined as the percentage of maximum heart rate ( $HR_{max} = 220$  minus the patient age) during the test. For moderate exercise the percentage was set at 60-79% and for high intensity above 80% of the  $HR_{max}$ . Blood samples were taken at rest and immediately after the CPET. Serum BDNF levels were determined by ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), according to R&D Systems protocol (Minneapolis, MN, USA).

G Power software, version 3.1.0, was used to determine the sample size as 28 individuals, considering an alpha error of 0.05 and a statistical power of 95%. Thirty CHD patients ( $47.85 \pm 8.71$  years, 20 male) were selected for this study. Parametric paired t-test and Pearson correlation test and Nonparametric Mann-Whitney and Spearman Rank correlation test were performed for data analysis, with significance levels at 0.001 and 0.05.

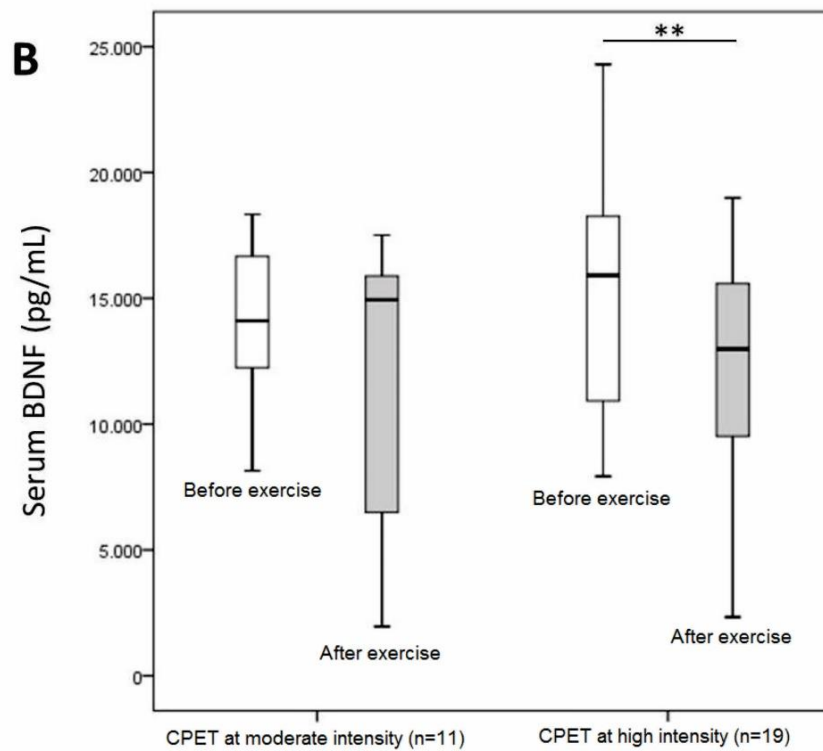
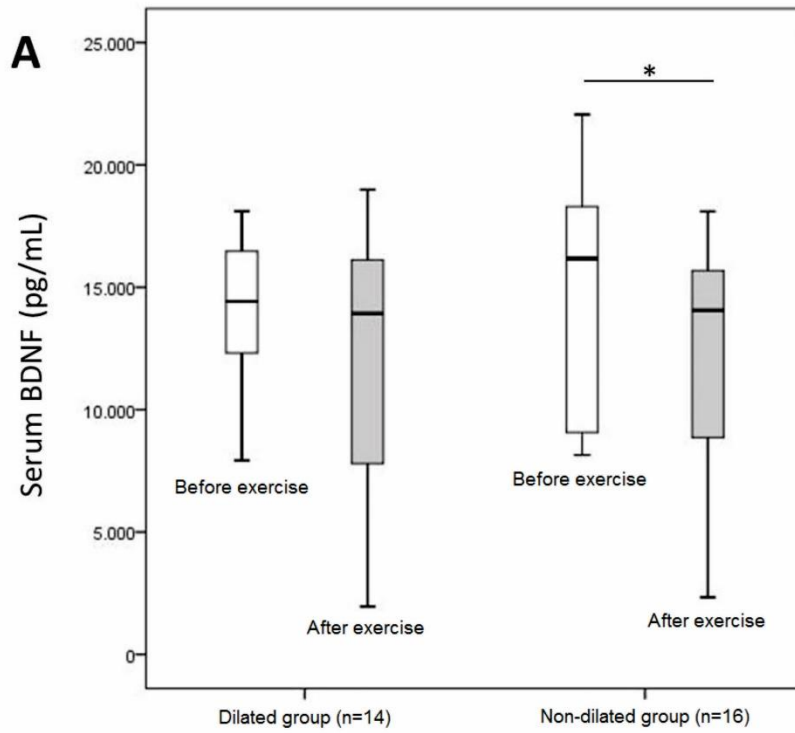
In the overall study population, there was a significant decrease in serum BDNF levels after acute exercise ( $p=0.006$ ). The clinical characteristics of the CHD patients stratified according to left ventricular systolic function are presented in Table 1.

**TABLE 1** – Clinical data from CHD patients stratified according to left ventricular systolic function.

<b>Variable</b>	<b>Non-dilated group (n=16)</b>	<b>Dilated group (n=14)</b>	<b>p-value</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.95 ± 4.63	26.85 ± 4.55	0.802
LVEF (%)	64.57 ± 5.50	39.50 ± 9.06	<b>&lt;0.001</b>
VO <sub>2peak</sub> (ml/kg/min)	29.98 ± 6.23	21.28 ± 7.54	<b>0.001</b>
BDNF at rest (pg/mL)	15083.10 ± 4541.22	13203.54 ± 3527.27	0.845
BDNF after exercise (pg/mL)	12804.17 ± 4605.47	10870.73 ± 5387.26	0.769
Δ BDNF (pg/mL)	-2278.93 ± 4183.27	-2334.76 ± 6376.03	0.902

Data presented as mean and standard deviation (M±SD). BMI = body mass index, LVEF = left ventricular ejection fraction; VO<sub>2peak</sub> = peak oxygen uptake; Δ BDNF = changes in BDNF after exercise compared to rest; pg/mL = picograms per milliliters.

There was no significant change in serum BDNF levels after exercise in dilated group (p=0.136). In contrast, non-dilated group showed a significant decrease in serum BDNF levels (p=0.038) (Figure 1A). Concerning the intensity of physical exercise, patients who underwent CPET at moderate intensity (n=11; all patients in dilated group) exhibited no changes in serum BDNF levels (p=0.477). However, patients who underwent CPET at high intensity (n=19, 16 in non-dilated and 3 in dilated group) had a significant decrease in BDNF levels (p <0.001) (Figure 1B).



**FIGURE 1** – Changes in serum BDNF before (white box) and after (gray box) acute exercise in A) non-dilated and dilated group and B) at moderate and high intensity. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.001$ .

To the best of our knowledge, this is the first study to demonstrate the effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with CHD. The main findings are the decrease in serum BDNF after acute aerobic exercise and the exercise intensity-dependent BDNF response.

All patients in the non-dilated group underwent CPET at high intensity, probably because they had higher functional capacity and lower exercise intolerance than those with left ventricular dysfunction. We hypothesized that both, the dysautonomia associated to CHD and the high intensity exercise, could contribute to a stress condition leading to a decrease in the serum BDNF levels after treadmill exercise.

Aerobic exercise at high intensity increases serum glucocorticoids such as cortisol that can negatively affect hippocampal plasticity [8, 9] and consequently reduces BDNF levels. A significant reduction in BDNF levels after maximal exercise performed immediately after warm-up activity was also found by Rojas Vega et al. [10] in patients with spinal cord injury. This previous study suggests that maximal effort can reduce BDNF levels by decreasing their production or release, increasing their degradation or stimulating their uptake from the blood into the brain.

A single session of moderate aerobic exercise may not be the stimulus needed to cause changes in BDNF levels in patients with CHD, since these patients have a severe autonomic dysfunction. However, the regular practice of moderate aerobic exercise might affect BDNF expression. Lima et al. [7] showed a significant increase in BDNF levels in patients with Chagas cardiomyopathy who had increased functional capacity after 12 weeks (36 sessions) of moderate exercise.

In conclusion, acute aerobic exercise was associated with a reduction in serum BDNF levels in patients with CHD, which was related to exercise intensity. High intensity aerobic exercise may negatively affect BDNF levels and, consequently, hippocampal plasticity in patients with CHD. To confirm this, further longitudinal studies are necessary encompassing a greater number of Chagas disease patients and exercise training at different levels of intensity.

## REFERENCES

- [1] Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62:767-76.
- [2] Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2007;5:727-43.
- [3] Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation.* 2007;115:1109-23.
- [4] Lanni C, Stanga S, Racchi M, Govoni S. The expanding universe of neurotrophic factors: therapeutic potential in aging and age-associated disorders. *Curr Pharm Des.* 2010;16:698-717.
- [5] Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci.* 2008;28:2278-87.
- [6] Martinelli PM, da Costa Rocha MO, Teixeira AL, do Carmo Pereira Nunes M, da Silva Camargos ER. Brain-derived neurotrophic factor is up regulated in chronic Chagas disease. *Int J Cardiol.* 2011;149:277-8.
- [7] Lima MM, Nunes MC, Nascimento B, Costa HS, Sousa LA, Teixeira AL, et al. Improvement of the functional capacity is associated with BDNF and autonomic modulation in Chagas disease. *Int J Cardiol.* 2013;167:2363-6.
- [8] Tang SW, Chu E, Hui T, Helmeste D, Law C. Influence of exercise on serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in healthy human subjects. *Neurosci Lett.* 2008;431:62-5.

[9] Shen X, Li A, Zhang Y, Dong X, Shan T, Wu Y, et al. The effect of different intensities of treadmill exercise on cognitive function deficit following a severe controlled cortical impact in rats. *Int J Mol Sci.* 2013;14:21598-612.

[10] Rojas Vega S, Abel T, Lindschulten R, Hollmann W, Bloch W, Struder HK. Impact of exercise on neuroplasticity-related proteins in spinal cord injured humans. *Neuroscience.* 2008;153:1064-70.

## 5.4 ARTIGO IV

### **PROGNOSTIC VALUE AND FACTORS RELATED TO SERUM BDNF LEVELS IN PATIENTS WITH CHAGAS HEART DISEASE.**

Henrique S. Costa, MsC<sup>1</sup>, Marcia Maria O. Lima, PhD<sup>2</sup>, Maria Carmo P. Nunes, MD, PhD<sup>1</sup>, Patrícia M. Martinelli, PhD<sup>3</sup>, Elizabeth R. S. Camargos, PhD<sup>3</sup>, Antonio L. Teixeira, MD, PhD<sup>1</sup>, Giovane R. Sousa, MsC<sup>1</sup>, Antonio P. Ribeiro, MD, PhD<sup>1</sup>, Manoel Otavio C. Rocha, MD, PhD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Postgraduate Course of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine, Medical School and Hospital das Clinicas of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

<sup>2</sup>Healthy and Biological Sciences Faculty, Physical Therapy School, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Morphology, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

#### **Correspondenceto:**

Manoel Otávio da Costa Rocha, MD, PhD

Av. Professor Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, 30.130-100, Belo Horizonte,

Minas Gerais, Brazil. Tel +55 31 34099746, Fax: +55 31 34099437. E-mail:

rochamoc@terra.com.br

## HIGHLIGHTS

- Echocardiographic variables were independent predictors of the serum BDNF concentration in patients with CHD.
- Serum BDNF levels were lower in patients with adverse cardiovascular events than event-free patients with CHD.
- Serum BDNF levels had limited value in predicting poor cardiovascular outcome in CHD.

## ABSTRACT

**Objective:** To verify the association between clinical, echocardiographic and functional parameters and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF), as well as its prognostic value in patients with Chagas heart disease (CHD).

**Methods:** Seventy-five patients with CHD ( $48.4 \pm 8.0$  years, NYHA I-III) were evaluated by echocardiography, symptom-limited exercise testing, Six-minute Walk Test and health-related quality of life. Serum BDNF levels were determined by ELISA sandwich in all patients. The predictors of serum BDNF were determined by linear regression models and survival analyses were performed by Kaplan-Meier curve and uni and multivariate Cox regression. **Results:** Left ventricular ejection fraction and the ratio of the early diastolic transmitral flow velocity to early diastolic mitral annular velocity were independent predictors of serum BDNF levels ( $p=0.004$  and  $p=0.016$ , respectively). After  $41 \pm 12$  months of follow-up, 20 patients had adverse cardiac outcomes and BDNF levels were lower in the group with adverse events compared to event-free group ( $p=0.030$ ). The concentration of 5.92 ng/mL was the optimal cut point value to predict cardiac event with significant difference between low and high BDNF levels ( $p=0.030$ ). However, in the multivariate Cox regression, the left ventricular ejection fraction remained as the only independent predictor of survival and cardiac event-free ( $p=0.048$ ). **Conclusion:** In patients with CHD, echocardiographic variables were independent predictors of the serum BDNF concentration. Despite being closely linked to determinants of survival and quality of life, serum BDNF levels seem to provide limited prognostic information in CHD patients.

**Keywords:** Chagas heart disease; brain-derived neurotrophic factor; prognosis.

## 1. INTRODUCTION

Chagas disease still remains an important public health problem in Latin America (Rocha et al., 2007, Martins-Melo et al., 2014). As a result of immigration and globalization, its prevalence has increased in the last decades both in Europe (Requena-Mendez et al., 2015) and United States (Gascon et al., 2010). Dysautonomia (Punukollu et al., 2007, Junqueira Jr, 2012) and inflammatory cytokine expression (Sousa et al., 2014) are important clinical features in all stages of the infection, especially in Chagas heart disease (CHD), the most severe clinical manifestation of the disease.

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a neurotrophin widely distributed in the central nervous system (Teixeira et al., 2010) that regulates various neurotrophic functions (Mattson et al., 2004) (including neuroregeneration, neuroprotection, and synaptic plasticity) and take part in metabolic (Gomez-Pinilla et al., 2008) and inflammatory (Qiao et al., 2016) processes. These properties linked the BDNF concentration to the pathophysiology of many neurodegenerative (Zuccato et al., 2009) and psychiatric disorders (Sen et al., 2008, Molendijk et al., 2014). In patients with heart disease, BDNF has proved to be a valuable cardioprotective factor against ischemic injury after myocardial infarction (Okada et al., 2012) and low BDNF levels were associated with worse prognosis in patients with heart failure and angina pectoris (Jiang et al., 2011).

Previous study (Martinelli et al., 2011) showed that serum BDNF levels is up-regulated in CHD patients compared to asymptomatic chagasic patients and healthy individuals. According to the authors, the autonomic denervation and the release of BDNF by inflammatory cells is supposed to be, at least partially,

responsible for the increased concentration of this neurotrophic factor in Chagas disease patients.

Furthermore, it was also demonstrated that a single session of aerobic exercise significantly reduces BDNF levels (Costa et al., 2014b) in CHD patients and, after exercise training, the improvement in functional capacity was associated with low basal levels of BDNF (Lima et al., 2013). However, the impact of BDNF levels on survival and adverse cardiac outcomes in patients with CHD remained unknown. The present study was addressed to verify the predictors and prognostic value of BDNF in patients with CHD.

## **2. METHODS**

A prospective study with clinically stable patients with CHD was followed up at scheduled clinic visits from an Outpatient Reference Center for Chagas Disease in the state of Minas Gerais, Brazil. The research was approved by the Institutional Ethics Committee and all patients gave their written informed consent before participating in study.

At least two positive serologic tests for antibodies against *Trypanosoma cruzi* were required for the diagnosis of Chagas disease. To be included in the present study, patients should also have clinical, electrocardiographic or echocardiographic findings compatible with CHD and sedentary lifestyle (not performing regular exercise in the six months preceding the study).

Exclusion criteria were the presence of systemic or heart disease by any other causes or co-morbidities, blood transfusion within six months, the use of antidepressant medication and the inability to perform exercise testing.

At the baseline, the blood sample was collected and eligible patients underwent echocardiogram, symptom-limited exercise testing, Six-minute Walk Test and a health-related quality of life questionnaire.

## **2.1 Blood sample and serum BDNF analysis**

A 5-mL sample of blood was collected by venipuncture using a sterile Vacutainer flask without anticoagulant after patients were rested for 30 minutes. Serum samples were stored at - 80°C and BDNF levels were determined by ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) (Trajkovska et al., 2007), according to R&D Systems protocol (Minneapolis, MN, USA). The biochemical analysis was performed by two different researchers.

## **2.2. Echocardiography evaluation**

Echocardiography was performed according to recommendations of the American Society of Echocardiography (Lang et al., 2005). Left ventricular ejection fraction (LVEF) was obtained by modified Simpson's rule. Diastolic function was assessed by pulsed-wave Doppler examination of mitral inflow, and by tissue Doppler imaging (TDI). Early diastolic velocity (e') at the medial border of the mitral annulus was obtained and the ratio between peak mitral E and e' (E/e') was calculated.

### **2.3 Treadmill exercise testing**

A symptom-limited exercise test was performed on a treadmill (Digistress Pulsar, Micromed, Brazil) using a standard Bruce protocol. On the day of the treadmill test, patients received their usual cardiac medications and were requested to abstain from food, coffee, cigarettes, and vigorous physical activity for at least 3 h before. A 12-lead ECG was continuously monitored and recorded every 1 min. The maximal exercise capacity was defined by  $VO_{2peak}$ , expressed in mL.kg.min and calculated indirectly by the formula  $VO_{2peak} = 2.33 (\text{time in min}) + 9.48$  (ACSM, 2006). The ratio between heart rate achieved during the test and maximum heart rate ( $HR_{max} = 220$  minus the patient age) were used as %HR achieved. The heart rate recovery was defined as the difference between the peak heart rate achieved during the test and the heart rate after 1 minute of passive recovery (Cole et al., 1999).

### **2.4 Six-minute Walk Test (6MWT)**

The 6MWT is a submaximal exercise testing with good correlation with  $VO_{2peak}$  evaluated by Cardiopulmonary Exercise Testing in patients with CHD (Costa et al., 2014a). The test was guided by the American Thoracic Society Statement (ATS, 2002) and patients were instructed to walk for six minutes on a 30m corridor. No words of encouragement were used. The distance walked during the test was recorded for analysis.

## **2.5 Health-related quality of life (HRQoL)**

HRQoL was assessed by the Short-form of Health Survey (SF-36), a generic questionnaire already used in Chagas disease patients (Oliveira et al., 2011). The SF-36 contains 36 items in eight domains (physical functioning, role physical, bodily pain, general health, vitality, social functioning, role emotional and mental health).

## **2.6 Statistical analysis**

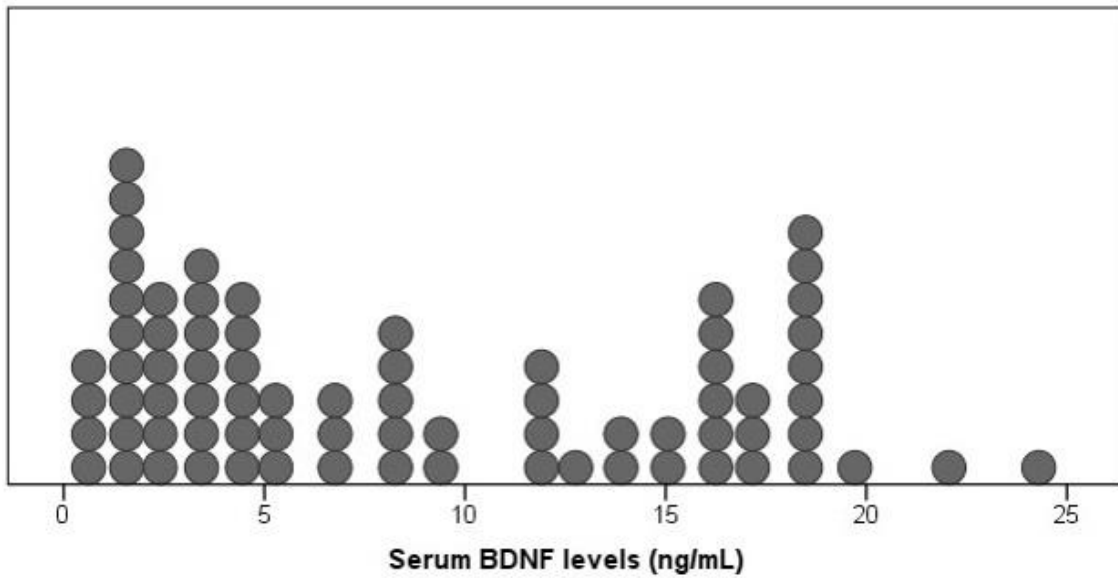
The data distribution was verified by Kolmogorov-Smirnov test. The descriptive analysis was shown as mean and standard deviation or median and interquartile range, as appropriate. Categorical variables are presented as absolute number (percentage). Independent T-test, Chi-square and Mann-Whitney were performed for data analysis, with significance levels at 0.05. The predictors of log BDNF levels (logarithm transformation of non-normal distribution) were verified by uni and multivariate linear regression. In the multivariate analysis, the variables that showed a p-value <0.25 in the univariate analysis were included. A receiver-operator curve was constructed to determine the cutoff value of the serum BDNF with the best combination of sensitivity and specificity to predict adverse cardiovascular events, defined as cardiac death, heart transplantation or cerebrovascular events. The cutoff value was used in the Kaplan-Meier curve. The prognostic role of BDNF levels was verified by uni and multivariate Cox regression analysis.

Data were analyzed with SPSS software (Chicago, Illinois).

### 3. RESULTS

#### 3.1 Baseline characteristics of the sample

A total of 75 CHD patients were evaluated. Serum BDNF levels range from 0.32 to 24.29 ng/mL (mean of 8.82 and median of 6.75 ng/mL). The concentration of serum BDNF is shown in Fig. 1.



**Fig. 1** – Serum BDNF levels in the overall study population (n=75).

Serum BDNF levels, demographic data, functional status, echocardiographic features and HRQoL are demonstrated in Table 1.

**Table 1**

Baseline characteristics of the sample.

<b>Variables</b>	<b>Mean</b>
Serum BDNF (ng/mL)	6.75 (2.50-18.44)
Age (years)	48.4±8.0
Male gender (%)	46 (61)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.3 (22.2-28.5)
NYHA class (%)	
I	45 (60)
II	24 (32)
III	6 (8)
<b>Exercise testing</b>	
VO <sub>2peak</sub> (mL.kg.min)	27.9±7.5
HRR (bpm)	20.0 (15.0-31.0)
%HR achieved	79.1±12.7
6MWT distance (m)	537.9±84.1
<b>Echocardiography</b>	
LVEF (%)	41.0 (35.0-53.5)
LVDd (mm)	60.2±9.6
E/e' ratio	10.9±4.3
<b>SF-36 HRQoL</b>	
PF	75.0 (60.0-90.0)
RP	75.0 (50.0-100.0)
BP	62.0 (51.5-100.0)
GH	55.0 (43.5-72.0)
V	65.0 (50.0-75.0)
SF	87.5 (62.5-100.0)
RE	100.0 (33.3-100.0)
MH	64.0 (48.0-82.0)

Data presented as mean and standard deviation (mean±SD), median (MD) and interquartile range (25-75%) or absolute number (percentage). ng/mL = nanograms per milliliters; BMI = body mass index; NYHA = New York Heart Association functional class; 6MWT = six-minute walk test; VO<sub>2peak</sub> = peak oxygen uptake; HRR = heart rate recovery; %HR achieved = percentage of maximum heart rate achieved at exercise test; 6MWT = Six-minute walk test; LVEF = left ventricular ejection fraction; LVDd = left ventricular end-diastolic diameter; E/e' ratio = ratio of the early diastolic transmitral flow velocity to early diastolic mitral annular velocity; SF-36 = Short-form of the health related quality of life questionnaire; PF = physical function; RP = role physical; BP = bodily pain; GH = general health; V = vitality; SF = social function; RE = role emotional; MH = mental health.

### 3.2 Predictors of serum BDNF levels in CHD patients

Age, body mass index (BMI), functional capacity, systolic and diastolic function were associated with serum BDNF levels in the univariate analysis (Table 2). In the multivariate model, only LVEF and E/e' ratio remained as independent predictors of BDNF levels. The model explained 40% of variations in the concentration of this neurotrophic factor.

**Table 2**

Factors associated with serum BDNF levels (log BDNF) in overall population with CHD.

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis*	
	B-coefficient	p-value	B-coefficient	p-value
Age (years)	-0.011	<b>0.080</b>	-0.008	0.311
Gender	-0.30	0.784	-	-
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.020	<b>0.100</b>	0.005	0.690
NYHA class	0.072	0.379	-	-
VO <sub>2peak</sub> (mL.kg.min)	-0.008	<b>0.250</b>	-0.015	0.160
%HR achieved (%)	0.005	<b>0.238</b>	0.002	0.638
HRR (bpm)	0.003	0.411	-	-
6MWTdistance (m)	0.001	<b>0.053</b>	0.001	0.204
LVEF (%)	0.013	<b>&lt;0.001</b>	0.018	<b>0.004</b>
LVDd (mm)	-0.015	<b>0.006</b>	0.006	0.488
E/e' ratio	0.027	<b>0.025</b>	-0.030	<b>0.016</b>

p-values highlighted in bold are statistically significant in the uni and multivariate models (p<0.25 and p<0.05, respectively).

\* The R<sup>2</sup> value for the final multivariate model was 0.40.

### 3.3 Serum BDNF role in predicting adverse cardiovascular outcome

At the final follow-up (41±12 months), 20 patients (27%) had adverse cardiovascular events. Patients with adverse events had lower serum BDNF levels (p=0.030), lower LVEF (p=0.002), higher LVDd (p=0.019) and worse HRQoL in general health (p=0.047) and social aspects (p=0.026) domain

compared to event-free group. Differences among variables are shown in Table 3.

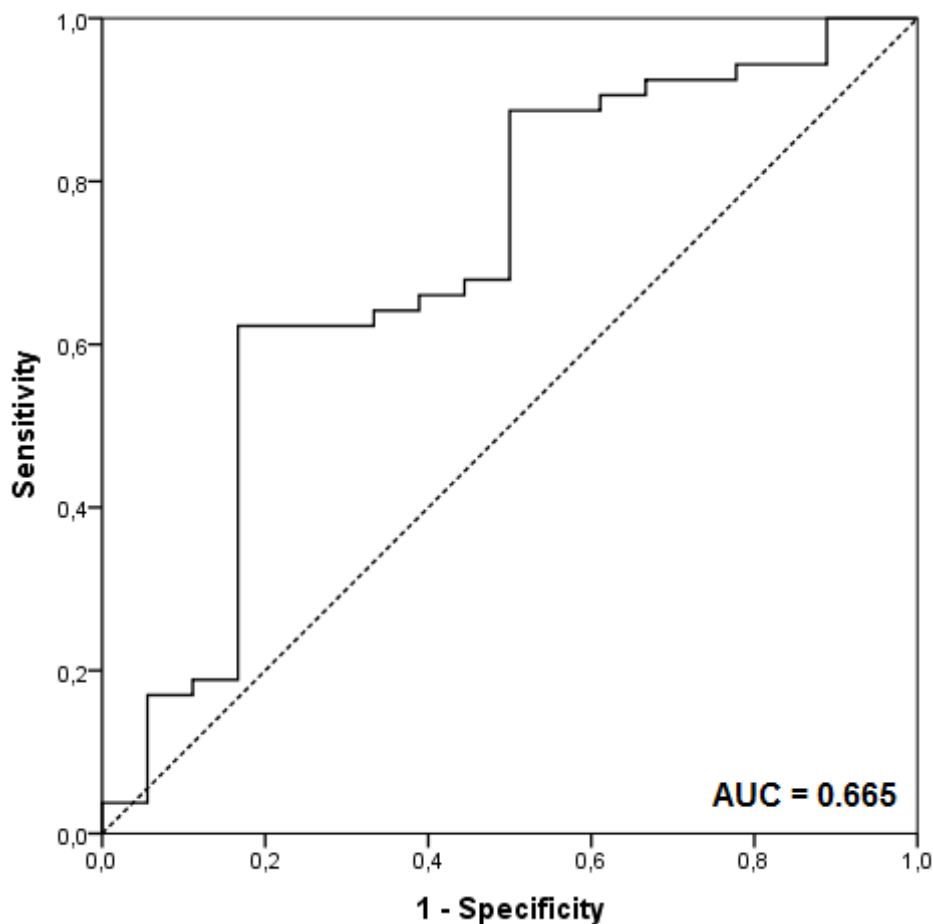
**Table 3**

Differences in serum BDNF, demographic data, functional status, echocardiographic parameters and HRQoL between CHD patients with and without adverse cardiovascular events.

<b>Variables</b>	<b>Without adverse event (n=55)</b>	<b>With adverse event (n=20)</b>	<b>p-value</b>
Serum BDNF (ng/mL)	8.61 (3.44-16.17)	3.45 (1.50-6.68)	<b>0.030</b>
Age (years)	47.9±7.9	49.5±8.1	0.461
Male gender (%)	35 (64)	11 (55)	0.338
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.3 (21.7-28.6)	24.3 (22.8-32.8)	0.822
NYHA class (%)			
I	33 (60%)	12 (60%)	
II	17 (31%)	7 (35%)	0.826
III	5 (9%)	1 (5%)	
<b>Exercise testing</b>			
VO <sub>2peak</sub> (mL.kg.min)	27.8±7.6	28.3±7.4	0.808
HRR (bpm)	20.0 (15.0-29.5)	20.5 (8.7-33.0)	0.586
%HR achieved	79.8±13.1	77.1±11.6	0.426
6MWT distance (m)	542.1±86.1	526.7±79.5	0.490
<b>Echocardiography</b>			
LVEF (%)	43.5 (36.0-60.6)	35.0 (27.0-42.0)	<b>0.002</b>
LVDd (mm)	58.6±10.3	64.4±5.7	<b>0.019</b>
E/e' ratio	10.8±3.9	10.9±5.4	0.893
<b>SF-36 HRQoL</b>			
PF	75.0 (60.0-90.0)	70.0 (65.0-80.0)	0.339
RP	75.0 (33.0-100.0)	50.0 (25.0-100.0)	0.214
BP	62.0 (51.0-100.0)	62.0 (52.0-100.0)	0.480
GH	56.0 (47.0-77.0)	47.0 (37.0-62.0)	<b>0.047</b>
V	62.5 (50.0-77.5)	65.0 (45.0-75.0)	0.520
SF	87.7 (62.5-100.0)	62.5 (50.0-87.5)	<b>0.026</b>
RE	100.0 (33.2-100.0)	66.7 (33.3-100.0)	0.527
MH	64.0 (47.0-84.0)	68.0 (48.0-76.0)	0.588

Data presented as mean and standard deviation (mean±SD), median (MD) and interquartile range (25-75%) or absolute number (percentage). Abbreviations as in Table 1. p-values highlighted in bold are statistically significant (p<0.05).

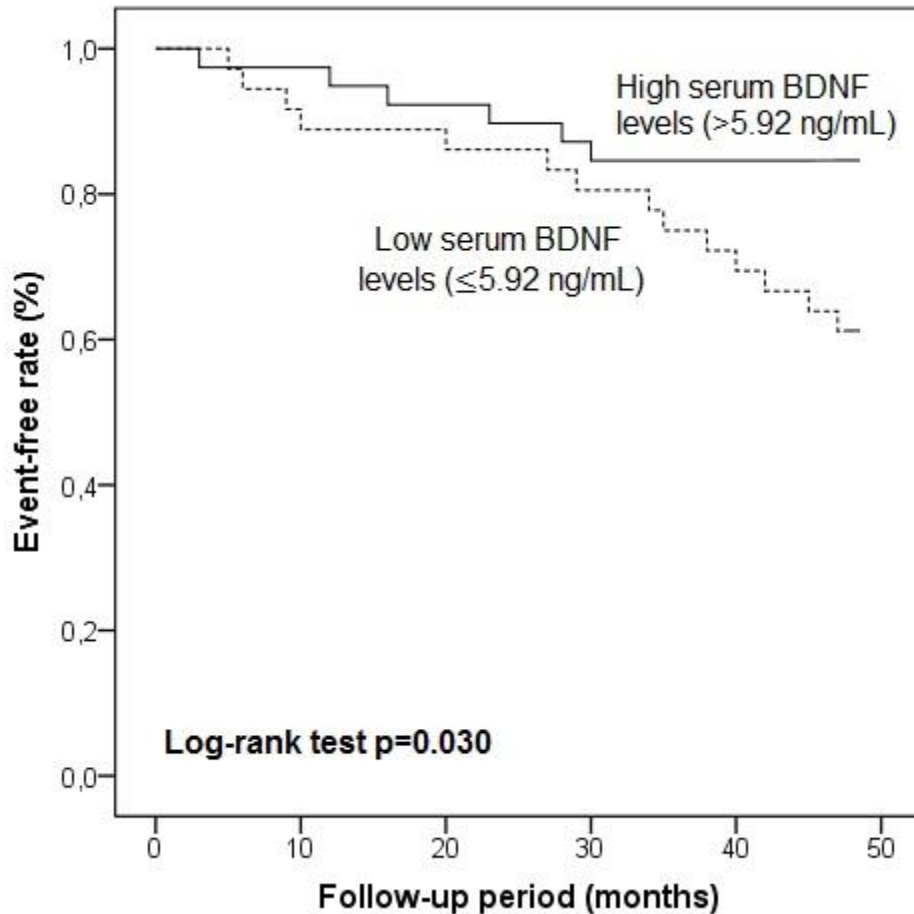
The area under ROC curve to identify the risk of adverse cardiovascular outcome by serum BDNF levels in CHD patients was 0.665 (95% CI: 0.513-0.816) (Fig. 2) and the concentration of 5.92 ng/mL was the optimal cut point value, with 60% of sensitivity and 70% of specificity.



**Fig. 2-** Accuracy of serum BDNF levels in predicting cardiac sudden death, cardiac transplantation or cerebrovascular ischemic events evaluated by the ROC curve in patients with CHD.

The frequency of adverse events was higher in the low BDNF group ( $\leq 5.92$  ng/mL) compared with the high BDNF group ( $> 5.92$  ng/mL) (67% vs 18%;  $p=0.020$ ). The event-free rate from cardiac death, cardiac transplantation or

cerebrovascular ischemic events was significantly lower in low-BDNF group ( $p=0.030$ ) as demonstrated by the Kaplan-Meier curve (Fig. 3).



**Fig. 3** – Kaplan-Meier curve for serum BDNF levels. The cutoff level of the serum BDNF concentration (5.92 ng/mL) was determined by the ROC curve.

The univariate Cox analysis showed that lower serum BDNF levels, LVEF and higher LVDD were associated with worse prognosis at the end of follow-up (Table 4).

**Table 4**

Univariate Cox analysis for cardiovascular adverse events at follow-up.

<b>Variables</b>	<b>HR</b>	<b>95% CI</b>	<b>p-value</b>
Serum BDNF levels (ng/mL)	1.00	1.00-1.00	<b>0.053</b>
Age (years)	1.02	0.97-1.08	0.395
Gender	1.29	0.53-3.12	0.569
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.99	0.90-1.10	0.878
NYHA functional class	0.92	0.46-1.84	0.823
VO <sub>2peak</sub> (mL.kg.min)	1.01	0.95-1.07	0.834
HRR (bpm)	0.99	0.95-1.03	0.702
%HR achieved	0.99	0.95-1.02	0.496
LVEF (%)	0.94	0.90-0.98	<b>0.003</b>
LVDd (mm)	1.05	1.01-1.10	<b>0.022</b>
E/e' ratio	1.01	0.91-1.12	0.837

HR = hazard ratio; 95% CI =95% confidence interval.

In the final multivariate Cox regression model, only LVEF (HR 0.935, 95% CI from 0.875 to 0.999, p=0.048) remained as independent predictor of adverse cardiovascular outcome in CHD patients.

#### **4. DISCUSSION**

Neurotrophic factors have gained increased attention in recent years (Knaepen et al., 2010) and lower BDNF showed to be intimately connected to many psychiatric (Molendijk et al., 2014), neurodegenerative (Zuccato et al , 2009) and metabolic diseases (Fujinami et al., 2008). In contrast to much of the results in other pathological conditions (Knaepen et al., 2010), BDNF was increased in patients with Chagas disease (Martinelli et al., 2011) compared to healthy individuals. However, the determinants of BDNF levels and its accuracy in predicting adverse events in Chagas disease patients remained unknown.

The present study showed, for the first time, some independent predictors of serum BDNF levels and its prognostic role in CHD patients. The main findings of the present study were: (1) LVEF and E/e' ratio were the only independent predictors of serum BDNF levels among those included; (2) patients with adverse cardiovascular events during the follow-up had lower serum BDNF levels, reduced LVEF, higher LVDd and worse scores of quality of life than patients without events; (3) the concentration of 5.92 ng/mL was the optimal value of BDNF concentration in predicting adverse outcomes; (4) patients with low BDNF levels ( $\leq 5.92$  ng/mL) had significant worse prognosis compared to patients with high BDNF levels ( $> 5.92$  ng/mL); (5) the LVEF was the only independent predictor of adverse cardiac event after 40 months of follow-up.

Despite being associated with factors of morbidity and mortality, serum BDNF seems not to be an independent predictor of poor prognosis in patients with CHD.

#### **4.1 Predictors of serum BDNF levels in CHD patients**

The metabolic properties of BDNF have been previously established and its concentration can be influenced by exercise (Gold et al., 2003, Goekint et al., 2010, Gomez-Pinilla et al., 2011). In healthy men (n=995, age from 20 to 76 years), Jung et al. (Jung et al., 2011) demonstrated an inverse association between  $VO_{2peak}$  and serum BDNF levels ( $r = -0.412$ ;  $p < 0.001$ ). Similarly, Nofuji et al. (Nofuji et al., 2008) showed that BDNF levels were significantly lower in trained (n=12) compared to sedentary men (n=14) ( $p < 0.01$ ). This inverse relationship had been explained by the increased utilization of BDNF on tissue repair after the stress induced by exercise (Nofuji et al., 2008).

However, in the present study, the functional capacity evaluated by maximal exercise testing and 6MWT was not a determinant of the concentration of BDNF. Echocardiographic parameters of systolic and diastolic function (LVEF and E/e' ratio, respectively) were the only determinants of BDNF concentration among the included variables. The association between serum BDNF and LVEF in Chagas disease patients were also found by Martinelli et al. (Martinelli et al., 2011) ( $r=0.313$ ,  $p=0.043$ ). This association could be explained by the presence of fibrosis and subsequent destruction of cardiomyocytes, important source of BDNF, in the patients with reduced LVEF and systolic dysfunction.

#### **4.2 Role of serum BDNF levels in predicting adverse events in CHD patients**

In the present study, the group with adverse cardiovascular events showed significant lower serum BDNF levels, lower LVEF, higher LVDD and worse scores of quality of life in the general health and social functioning domains, compared to event-free group. Echocardiographic parameters are determinants of serum BDNF and related to the disease's progression and impairment in cardiac function.

Results from the ROC curve showed a limited accuracy of BDNF levels in predicting adverse cardiovascular events (AUC value below 0.7). However, the Kaplan-Meier curve using the cutoff value with better sensitivity and specificity at ROC curve showed that patients with lower BDNF levels had significantly worse prognosis compared to patients with higher BDNF levels.

In patients with heart failure, two studies verified the prognostic role of BDNF levels. Fukushima et al. (Fukushima et al., 2015) evaluated 58 patients

(59.2±13.7 years, NYHA I-III) and found that, after 20.3 months of follow-up, BDNF and brain natriuretic peptide (BNP) levels were independent predictors of adverse events in heart failure patients. Low BDNF levels (<17.4 ng/mL) were significantly associated with morbidity and mortality than high BDNF levels (≥17.4 ng/mL) (log rank test:  $p < 0.001$ ). Kadowaki et al. (Kadowaki et al., 2015) evaluated a large number of patients with heart failure ( $n=134$ , 71±13 years, NYHA II-IV) and demonstrated that patients with low BDNF levels ( $\leq 12.4$  ng/mL) had poor prognosis compared to high BDNF concentration ( $> 12.4$  ng/mL) (log rank test:  $p=0.0005$ ). Low BDNF levels were independently associated with cardiovascular adverse outcomes (HR 2.93, 95% CI: 1.62 to 5.30;  $p=0.0004$ ), as well as BNP, age and estimated glomerular filtration rate.

In contrast, the Cox regression analysis in the present study showed that BDNF levels were not independent predictors of adverse events in patients with CHD. This difference could be partly explained by the wide variation in the concentration of BDNF shown by the sample of the present study. Moreover, as a study limitation, there were few adverse events during the follow-up period. Finally, it would be possible that other factors related to ventricular function, such as LVEF (Ribeiro et al., 2012), could be better predictors of morbidity and mortality than serum BDNF concentration.

In conclusion, variables of systolic and diastolic function were associated with BDNF levels in patients with CHD. Despite being lower in patients with adverse events and be associated with poor prognosis factors, serum BDNF levels seems to have a limited role in predicting cardiovascular events in this population.

## **Funding**

This work was supported by: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasília, Brazil) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brazil).

## **REFERENCES**

ACSM. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Exercise Prescription. 7th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2006.

ATS. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2002;166:111-7.

Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS. Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. The New England Journal of Medicine. 1999;341:1351-7.

Costa HS, Lima MM, de Sousa GR, de Souza AC, Alencar MC, Nunes MC, et al. Functional capacity and risk stratification by the Six-minute Walk Test in Chagas heart disease: comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing. International Journal of Cardiology. 2014a;177:661-3.

Costa HS, Lima MM, Silva MG, Alencar MC, Nunes MC, Camargos ER, et al. Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease. International Journal of Cardiology. 2014b;174:828-30.

Fujinami A, Ohta K, Obayashi H, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with type 2 diabetes mellitus: Relationship to glucose metabolism and biomarkers of insulin resistance. Clinical Biochemistry. 2008;41:812-7.

Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor level predicts adverse clinical outcomes in patients with heart failure. *Journal of Cardiac Failure*. 2015;21:300-6.

Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica*. 2010;115:22-7.

Goekint M, Roelands B, De Pauw K, Knaepen K, Bos I, Meeusen R. Does a period of detraining cause a decrease in serum brain-derived neurotrophic factor? *Neuroscience Letters*. 2010;486:146-9.

Gold SM, Schulz KH, Hartmann S, Mladek M, Lang UE, Hellweg R, et al. Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. *Journal of Neuroimmunology*. 2003;138:99-105.

Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *The European Journal of Neuroscience*. 2008;28:2278-87.

Gomez-Pinilla F, Zhuang Y, Feng J, Ying Z, Fan G. Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *The European Journal of Neuroscience*. 2011;33:383-90.

Jiang H, Liu Y, Zhang Y, Chen ZY. Association of plasma brain-derived neurotrophic factor and cardiovascular risk factors and prognosis in angina pectoris. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011;415:99-103.

Jung SH, Kim J, Davis JM, Blair SN, Cho HC. Association among basal serum BDNF, cardiorespiratory fitness and cardiovascular disease risk factors in untrained healthy Korean men. *European Journal of Applied Physiology*. 2011;111:303-11.

Junqueira Jr LF. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2012;45:243-52.

Kadowaki S, Shishido T, Honda Y, Narumi T, Otaki Y, Kinoshita D, et al. Additive clinical value of serum brain-derived neurotrophic factor for prediction of chronic heart failure outcome. *Heart and Vessels*. 2015.

Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen R. Neuroplasticity - exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports medicine*. 2010;40:765-801.

Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2005;18:1440-63.

Lima MM, Nunes MC, Nascimento B, Costa HS, Sousa LA, Teixeira AL, et al. Improvement of the functional capacity is associated with BDNF and autonomic modulation in Chagas disease. *International Journal of Cardiology*. 2013;167:2363-6.

Martinelli PM, da Costa Rocha MO, Teixeira AL, do Carmo Pereira Nunes M, da Silva Camargos ER. Brain-derived neurotrophic factor is up regulated in chronic Chagas disease. *International Journal of Cardiology*. 2011;149:277-8.

Martins-Melo FR, Ramos AN, Jr., Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*. 2014;130:167-74.

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in Neurosciences*. 2004;27:589-94.

Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, Bus BA, Penninx BW, Elzinga BM. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Molecular Psychiatry*. 2014;19:791-800.

Nofuji Y, Suwa M, Moriyama Y, Nakano H, Ichimiya A, Nishichi R, et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor in trained men. *Neuroscience Letters*. 2008;437:29-32.

Okada S, Yokoyama M, Toko H, Tateno K, Moriya J, Shimizu I, et al. Brain-derived neurotrophic factor protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction via a central nervous system-mediated pathway. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2012;32:1902-9.

Oliveira BG, Abreu MN, Abreu CD, Rocha MO, Ribeiro AL. Health-related quality of life in patients with Chagas disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2011;44:150-6.

Punukollu G, Gowda RM, Khan IA, Navarro VS, Vasavada BC. Clinical aspects of the Chagas' heart disease. *International Journal of Cardiology*. 2007;115:279-83.

Qiao LY, Shen S, Liu M, Xia C, Kay JC, Zhang QL. Inflammation and activity augment brain-derived neurotrophic factor peripheral release. *Neuroscience*. 2016;318:114-21.

Requena-Mendez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, et al. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected Tropical Diseases*. 2015;9:e0003540.

Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nature Reviews Cardiology*. 2012;9:576-89.

Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2007;5:727-43.

Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biological Psychiatry*. 2008;64:527-32.

Sousa GR, Gomes JA, Fares RC, Damasio MP, Chaves AT, Ferreira KS, et al. Plasma cytokine expression is associated with cardiac morbidity in chagas disease. *PloS One*. 2014;9:e87082.

Teixeira AL, Barbosa IG, Diniz BS, Kummer A. Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: correlation with mood, cognition and motor function. *Biomarkers in Medicine*. 2010;4:871-87.

Trajkovska V, Marcussen AB, Vinberg M, Hartvig P, Aznar S, Knudsen GM. Measurements of brain-derived neurotrophic factor: methodological aspects and demographical data. *Brain Research Bulletin*. 2007;73:143-9.

Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neurology*. 2009;5:311-22.

## 6. RESUMO DOS RESULTADOS

No primeiro estudo observou-se que:

- A distância caminhada no TC6' apresentou boa correlação com o  $VO_{2\text{pico}}$  avaliado pelo TECP na CCh. Por outro lado, não houve correlação entre a distância caminhada e  $VE/VCO_2$  *slope*.
- Na estratificação dos pacientes com CCh quanto à função sistólica, o grupo com disfunção do ventrículo esquerdo apresentou melhor correlação entre a distância caminhada no TC6' e o  $VO_{2\text{pico}}$  que o grupo com FEVE preservada.
- Na CCh, a distância caminhada de 522m durante o TC6' apresentou 72,4% de sensibilidade e 81,8% de especificidade em detectar os pacientes com comprometimento funcional importante, definido pelo valor de  $VO_{2\text{pico}} \leq 20$  mL/kg/min.

No segundo estudo determinou-se que:

- O modelo representado pela equação  $VO_{2\text{pico}} = 53,43 + (1,35 \times \text{sexo}) - (5,59 \times \text{NYHA}) + (0,01 \times \text{distância percorrida no TC6'}) - (0,29 \times \text{idade}) - (0,035 \times \text{IMC})$  apresentou correlação forte entre os valores observados e preditos do  $VO_{2\text{pico}}$  ( $r=0,81$ ;  $p<0,001$ ).
- Não houve diferença significativa entre os valores de  $VO_{2\text{pico}}$  observado e predito pelo modelo proposto ( $p=0,223$ ).
- Na análise de concordância apenas 5 valores (6,1%) mostraram-se fora dos limites de concordância do diagrama de Bland-Altman.

No terceiro estudo detectou-se que:

- Também na CCh, houve redução significativa dos níveis séricos do BDNF após esforço agudo.
- Na estratificação dos grupos, tanto o grupo com fração de ejeção preservada como o grupo que realizou o esforço em alta intensidade, apresentaram redução significativa do BDNF sérico após o exercício agudo. Como todos os indivíduos com função sistólica preservada realizaram o teste em alta intensidade, nós hipotetizamos que a intensidade do esforço seria o principal fator determinante do comportamento do BDNF após o esforço.

No quarto estudo detectou-se que:

- A FEVE e a razão E/e' foram preditores independentes da concentração sérica do BDNF em pacientes com CCh;
- No momento inicial do estudo, a concentração sérica do BDNF foi significativamente menor nos pacientes que apresentaram eventos cardíacos adversos após 41±12 meses de seguimento (p=0,03);
- A concentração sérica do BDNF de 5,92 ng/mL foi o valor ótimo com melhor sensibilidade (60%) e especificidade (70%) na predição de eventos cardíacos adversos em pacientes com CCh;
- Os pacientes com CCh e baixa concentração sérica de BDNF ( $\leq 5,92$  ng/mL) apresentaram menor ocorrência de eventos adversos cardiovasculares em relação aos pacientes com alta concentração do BDNF ( $> 5,92$  ng/mL) (p=0,03);

- Na análise univariada, a concentração sérica do BDNF estava relacionada à ocorrência de eventos cardiovasculares adversos; entretanto, a análise de Cox multivariada demonstrou que a FEVE foi o único preditor independente ( $p=0,048$ ).

## 7. CONCLUSÃO

A intolerância ao esforço é um achado importante em pacientes com cardiopatia chagásica, especialmente presente com a progressão da doença. Essa tese demonstrou que métodos simples e de baixo custo como o TC6' são medidas úteis na identificação de pacientes com comprometimento funcional.

Também foi proposta uma equação com bom desempenho em prever o  $VO_{2\text{pico}}$  utilizando a distância caminhada no TC6' e variáveis clínicas de fácil obtenção e com potencial de avaliar a capacidade funcional em áreas com poucos recursos financeiros e tecnológicos. O  $VO_{2\text{pico}}$  obtido pelo modelo proposto pode ser útil na avaliação periódica da capacidade funcional, na estratificação de risco e na prescrição de exercício físico para pacientes com cardiopatia chagásica.

Quanto à prescrição de exercício, foi demonstrado que outros fatores além do  $VO_{2\text{pico}}$  devem ser considerados. Exercícios de alta intensidade podem reduzir os níveis séricos do BDNF nesta população, o que poderia gerar um impacto negativo nas propriedades neurais e metabólicas deste fator neurotrófico. Entretanto, apesar de estar intimamente relacionado a importantes fatores prognósticos e qualidade de vida, a análise isolada do BDNF sérico oferece informações limitadas sobre a sobrevida do paciente com CCh.

## 8. PERSPECTIVAS

Ainda na área de concentração da Infectologia e Medicina Tropical, três estudos são sugeridos para continuidade dos trabalhos.

Os achados demonstrados nessa tese mostraram a eficácia do TC6' em prever a CF dos pacientes com CCh de forma simples e pouco onerosa. Considerando a importância da predição do  $VO_{2\text{pico}}$  em áreas endêmicas, onde até mesmo o teste ergométrico pode estar indisponível, e a provável relação entre o comprometimento funcional e qualidade de vida desses pacientes, futuros estudos focando a aplicação da equação de predição do  $VO_{2\text{pico}}$  pelo TC6' aqui proposta em área endêmica devem ser realizados. Adicionalmente, deve-se verificar o valor prognóstico da distância caminhada e da frequência cardíaca de recuperação após o TC6' na CCh, buscando alternativas de baixo custo operacional no acompanhamento clínico desses pacientes.

Ainda na linha de pesquisa em CF, um estudo está sendo realizado pelo nosso grupo com o objetivo de verificar a relação entre a fraqueza muscular inspiratória e variáveis funcionais avaliadas pelo TECP na CCh e se esses pacientes poderiam ser beneficiados pelo treinamento muscular respiratório. Além disso, verificar a possível associação da força muscular inspiratória com intolerância ao esforço em pacientes com estenose mitral também é um estudo proposto na continuidade da linha de pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ROCHA, M. O.; TEIXEIRA, M. M.; RIBEIRO, A. L. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 5, n. 4, p. 727-43, Aug 2007.
- 2 ANDRADE, J. P. *et al.* I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, p. 01-48, 2011.
- 3 BOTONI, F. A. *et al.* Treatment of Chagas cardiomyopathy. **Biomed Res Int**, v. 2013, p. 849504, 2013.
- 4 COSTA ROCHA, M. O. *et al.* Cardiovascular function in elderly patients with chronic chagasic cardiopathy. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 5, p. 545-50, Sep-Oct 2003.
- 5 DICKSTEIN, K. *et al.* ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). **Eur J Heart Fail**, v. 10, n. 10, p. 933-89, Oct 2008.
- 6 MCKELVIE, R. S. Exercise training in patients with heart failure: clinical outcomes, safety, and indications. **Heart Fail Rev**, v. 13, n. 1, p. 3-11, Feb 2008.
- 7 PULZ, C. *et al.* Incremental shuttle and six-minute walking tests in the assessment of functional capacity in chronic heart failure. **Can J Cardiol**, v. 24, n. 2, p. 131-5, Feb 2008.
- 8 HOLLAND, A. E. *et al.* An official European Respiratory Society/American Thoracic Society technical standard: field walking tests in chronic respiratory disease. **Eur Respir J**, v. 44, n. 6, p. 1428-46, Dec 2014.
- 9 DOURADO, K. C. *et al.* Assessment of quality of life in patients with chronic heart failure secondary to Chagas' cardiomyopathy. **Int J Cardiol**, v. 108, n. 3, p. 412-3, Apr 14 2006.
- 10 SOUSA, L. *et al.* Six-minute walk test in Chagas cardiomyopathy. **Int J Cardiol**, v. 125, n. 1, p. 139-41, Mar 28 2008.
- 11 LIMA, M. M. *et al.* Improvement of the functional capacity is associated with BDNF and autonomic modulation in Chagas disease. **Int J Cardiol**, v. 167, n. 5, p. 2363-6, Sep 1 2013.

- 12 MOWLA, S. J. *et al.* Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. **J Biol Chem**, v. 276, n. 16, p. 12660-6, Apr 20 2001.
- 13 TEIXEIRA, A. L. *et al.* Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: correlation with mood, cognition and motor function. **Biomark Med**, v. 4, n. 6, p. 871-87, Dec 2010.
- 14 KNAEPEN, K. *et al.* Neuroplasticity - exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects. **Sports Med**, v. 40, n. 9, p. 765-801, Sep 1 2010.
- 15 MARTINELLI, P. M. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is up regulated in chronic Chagas disease. **Int J Cardiol**, v. 149, n. 2, p. 277-8, Jun 2 2011.
- 16 BOCCHI, E. A. *et al.* III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, p. 3-70, 2009.
- 17 WRITING COMMITTEE, M. *et al.* 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. **Circulation**, v. 128, n. 16, p. e240-327, Oct 15 2013.
- 18 MCMURRAY, J. J. *et al.* ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **Eur J Heart Fail**, v. 14, n. 8, p. 803-69, Aug 2012.
- 19 BARRETTO, A. C. P. *et al.* Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 1-30, 2002.
- 20 GAUI, E. N.; OLIVEIRA, G. M. M. D.; KLEIN, C. H. Mortality by Heart Failure and Ischemic Heart Disease in Brazil from 1996 to 2011. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, p. 557-565, 2014.
- 21 BOCCHI, E. *et al.* Atualização da diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica - 2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 98, p. 1-33, 2012.
- 22 GODOY, H. L. *et al.* Hospitalização e mortalidade por insuficiência cardíaca em hospitais públicos no município de São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, p. 402-407, 2011.
- 23 SILVA, C. P. *et al.* Por que os portadores de cardiomiopatia chagásica têm pior evolução que os não-chagásicos? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, p. 389-394, 2008.

- 24 MESQUITA, E. T. *et al.* Biologia de Sistemas Aplicada à Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Normal. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, p. 510-517, 2014.
- 25 BENNETT, J. A. *et al.* Validity and reliability of the NYHA classes for measuring research outcomes in patients with cardiac disease. **Heart Lung**, v. 31, n. 4, p. 262-70, Jul-Aug 2002.
- 26 MADSEN, B. K. *et al.* Chronic congestive heart failure. Description and survival of 190 consecutive patients with a diagnosis of chronic congestive heart failure based on clinical signs and symptoms. **Eur Heart J**, v. 15, n. 3, p. 303-10, Mar 1994.
- 27 POCOCK, S. J. *et al.* Predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. **Eur Heart J**, v. 27, n. 1, p. 65-75, Jan 2006.
- 28 RIBEIRO, A. L. *et al.* Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. **Nat Rev Cardiol**, v. 9, n. 10, p. 576-89, Oct 2012.
- 29 NUNES, M. C. *et al.* Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. **J Am Coll Cardiol**, v. 62, n. 9, p. 767-76, Aug 27 2013.
- 30 MARTINS-MELO, F. R. *et al.* Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Acta Trop**, v. 130, p. 167-74, Feb 2014.
- 31 RASSI, A., JR.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388-402, Apr 17 2010.
- 32 ROCHA, M. O.; RIBEIRO, A. L.; TEIXEIRA, M. M. Clinical management of chronic Chagas cardiomyopathy. **Front Biosci**, v. 8, p. e44-54, Jan 1 2003.
- 33 GASCON, J.; BERN, C.; PINAZO, M. J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta Trop**, v. 115, n. 1-2, p. 22-7, Jul-Aug 2010.
- 34 PINTO DIAS, J. C. Human chagas disease and migration in the context of globalization: some particular aspects. **J Trop Med**, v. 2013, p. 789758, 2013.
- 35 GASCON, J.; VILASANJUAN, R.; LUCAS, A. The need for global collaboration to tackle hidden public health crisis of Chagas disease. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 12, n. 4, p. 393-5, Apr 2014.
- 36 REQUENA-MENDEZ, A. *et al.* Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 9, n. 2, p. e0003540, Feb 2015.
- 37 International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 315-319, 2008.

- 38 MUNOZ-SARAVIA, S. G. *et al.* Chronic Chagas' heart disease: a disease on its way to becoming a worldwide health problem: epidemiology, etiopathology, treatment, pathogenesis and laboratory medicine. **Heart Fail Rev**, v. 17, n. 1, p. 45-64, Jan 2012.
- 39 CHAGAS, C.; VILLELA, E. Forma cardiaca da Trypanosomiase Americana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 14, p. 5-61, 1922.
- 40 RIBEIRO, A. L. P.; ROCHA, M. O. D. C. Forma indeterminada da doença de Chagas: considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 301-314, 1998.
- 41 DEC, G. W.; FUSTER, V. Idiopathic dilated cardiomyopathy. **N Engl J Med**, v. 331, n. 23, p. 1564-75, Dec 8 1994.
- 42 BARBOSA, A. P. *et al.* Comparação do desfecho entre a cardiopatia chagásica e a miocardiopatia dilatada idiopática. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, p. 517-525, 2011.
- 43 BESTETTI, R. B.; MUCCILLO, G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparison with dilated cardiomyopathy. **Int J Cardiol**, v. 60, n. 2, p. 187-93, Jul 25 1997.
- 44 ROSSI, M. A.; BESTETTI, R. B. The challenge of chagasic cardiomyopathy. The pathologic roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms and microvascular changes, and therapeutic implications. **Cardiology**, v. 86, n. 1, p. 1-7, 1995.
- 45 MARIN-NETO, J. A. *et al.* Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. **Circulation**, v. 115, n. 9, p. 1109-23, Mar 6 2007.
- 46 GUTIERREZ, F. R. *et al.* The role of parasite persistence in pathogenesis of Chagas heart disease. **Parasite Immunol**, v. 31, n. 11, p. 673-85, Nov 2009.
- 47 PUNUKOLLU, G. *et al.* Clinical aspects of the Chagas' heart disease. **Int J Cardiol**, v. 115, n. 3, p. 279-83, Feb 14 2007.
- 48 RIBEIRO, A. L. *et al.* Parasympathetic dysautonomia precedes left ventricular systolic dysfunction in Chagas disease. **Am Heart J**, v. 141, n. 2, p. 260-5, Feb 2001.
- 49 BARBOSA, M. P. T. *et al.* Ventricular arrhythmias in Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 4-10, 2015.
- 50 GARZON, S. A.; LORGA, A. M.; NICOLAU, J. C. Electrocardiography in Chagas' heart disease. **Sao Paulo Med J**, v. 113, n. 2, p. 802-13, Mar-Apr 1995.
- 51 ACQUATELLA, H. Echocardiography in Chagas heart disease. **Circulation**, v. 115, n. 9, p. 1124-31, Mar 6 2007.

- 52 BALADY, G. J. *et al.* Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 122, n. 2, p. 191-225, Jul 13 2010.
- 53 ENG, J. J. *et al.* Functional walk tests in individuals with stroke: relation to perceived exertion and myocardial exertion. **Stroke**, v. 33, n. 3, p. 756-61, Mar 2002.
- 54 SOLWAY, S. *et al.* A qualitative systematic overview of the measurement properties of functional walk tests used in the cardiorespiratory domain. **Chest**, v. 119, n. 1, p. 256-70, Jan 2001.
- 55 DI NUBILA, H. B. V.; BUCHALLA, C. M. O papel das Classificações da OMS - CID e CIF nas definições de deficiência e incapacidade. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, p. 324-335, 2008.
- 56 ENRIGHT, P. L. The six-minute walk test. **Respir Care**, v. 48, n. 8, p. 783-5, Aug 2003.
- 57 HAWKINS, M. N. *et al.* Maximal oxygen uptake as a parametric measure of cardiorespiratory capacity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 1, p. 103-7, Jan 2007.
- 58 KAMINSKY, L. A.; TUTTLE, M. S. Functional assessment of heart failure patients. **Heart Fail Clin**, v. 11, n. 1, p. 29-36, Jan 2015.
- 59 OLSSON, L. G. *et al.* Six minute corridor walk test as an outcome measure for the assessment of treatment in randomized, blinded intervention trials of chronic heart failure: a systematic review. **Eur Heart J**, v. 26, n. 8, p. 778-93, Apr 2005.
- 60 DUSCHA, B. D. *et al.* Capillary density of skeletal muscle: a contributing mechanism for exercise intolerance in class II-III chronic heart failure independent of other peripheral alterations. **J Am Coll Cardiol**, v. 33, n. 7, p. 1956-63, Jun 1999.
- 61 METTAUER, B. *et al.* Heart failure: a model of cardiac and skeletal muscle energetic failure. **Pflugers Arch**, v. 452, n. 6, p. 653-66, Sep 2006.
- 62 ARENA, R.; MYERS, J.; GUAZZI, M. The clinical importance of cardiopulmonary exercise testing and aerobic training in patients with heart failure. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 12, p. 75-87, 2008.
- 63 MADY, C. *et al.* Maximal functional capacity in patients with Chagas' cardiomyopathy without congestive heart failure. **J Card Fail**, v. 6, n. 3, p. 220-4, Sep 2000.
- 64 MADY, C. *et al.* Normal maximal functional capacity in patients with congestive heart failure due to Chagas' cardiomyopathy. **Arq Bras Cardiol**, v. 67, n. 1, p. 1-4, Jul 1996.

- 65 MONTES DE OCA, M. *et al.* Exercise performance and skeletal muscles in patients with advanced Chagas disease. **Chest**, v. 125, n. 4, p. 1306-14, Apr 2004.
- 66 YAZBEK JR, P. *et al.* Ergoespirometria. Teste de esforço cardiopulmonar, metodologia e interpretação. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, p. 719-724, 1998.
- 67 ROSS, R. M. ATS/ACCP statement on cardiopulmonary exercise testing. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 167, n. 10, p. 1451; author reply 1451, May 15 2003.
- 68 PALANGE, P. *et al.* Recomendações sobre o uso dos testes de exercício na prática clínica. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 13, p. 628-632, 2007.
- 69 GUAZZI, M. *et al.* The added prognostic value of ventilatory efficiency to the Weber classification system in patients with heart failure. **Int J Cardiol**, v. 129, n. 1, p. 86-92, Sep 16 2008.
- 70 GUIMARÃES, G. V. *et al.* VO<sub>2</sub> pico e inclinação VE/VCO<sub>2</sub> na era dos betabloqueadores na insuficiência cardíaca: uma experiência brasileira. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, p. 42-48, 2008.
- 71 MYERS, J. *et al.* Cardiac output and cardiopulmonary responses to exercise in heart failure: application of a new bio-reactance device. **J Card Fail**, v. 13, n. 8, p. 629-36, Oct 2007.
- 72 PONIKOWSKI, P. *et al.* Ventilatory response to exercise correlates with impaired heart rate variability in patients with chronic congestive heart failure. **Am J Cardiol**, v. 82, n. 3, p. 338-44, Aug 1 1998.
- 73 KRUGER, S. *et al.* brain natriuretic peptide levels predict functional capacity in patients with chronic heart failure. **J Am Coll Cardiol**, v. 40, n. 4, p. 718-22, Aug 21 2002.
- 74 RITT, L. E. *et al.* Cardiopulmonary exercise and 6-min walk tests as predictors of quality of life and long-term mortality among patients with heart failure due to Chagas disease. **Int J Cardiol**, v. 168, n. 4, p. 4584-5, Oct 9 2013.
- 75 BUTLAND, R. J. *et al.* Two-, six-, and 12-minute walking tests in respiratory disease. **Br Med J (Clin Res Ed)**, v. 284, n. 6329, p. 1607-8, May 29 1982.
- 76 AMERICAN THORACIC SOCIETY. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, n. 1, p. 111-7, Jul 1 2002.
- 77 BRITTO, R. R.; SOUSA, L. A. P. D. Teste de Caminhada de Seis Minutos - uma normatização brasileira. **Fisioterapia em Movimento**, v. 19, n. 4, p. 49-54, 2006.

- 78 CAHALIN, L. P. *et al.* The six-minute walk test predicts peak oxygen uptake and survival in patients with advanced heart failure. **Chest**, v. 110, n. 2, p. 325-32, Aug 1996.
- 79 BITTNER, V. *et al.* Prediction of mortality and morbidity with a 6-minute walk test in patients with left ventricular dysfunction. SOLVD Investigators. **JAMA**, v. 270, n. 14, p. 1702-7, Oct 13 1993.
- 80 CAHALIN, L. P.; ARENA, R.; GUAZZI, M. Comparison of heart rate recovery after the six-minute walk test to cardiopulmonary exercise testing in patients with heart failure and reduced and preserved ejection fraction. **Am J Cardiol**, v. 110, n. 3, p. 467-8, Aug 1 2012.
- 81 DOURADO, K. C. *et al.* Evaluation of the six-minute walk test in patients with chronic heart failure associated with Chagas' disease and systemic arterial hypertension. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 4, p. 405-8, Jul-Aug 2010.
- 82 VILAS-BOAS, F. *et al.* Resultados iniciais do transplante de células de medula óssea para o miocárdio de pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia chagásica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, p. 159-166, 2006.
- 83 LIMA, M. M. *et al.* A randomized trial of the effects of exercise training in Chagas cardiomyopathy. **Eur J Heart Fail**, v. 12, n. 8, p. 866-73, Aug 2010.
- 84 VIEIRA, F. C. *et al.* Respiratory muscle strength, the six-minute walk test and quality of life in Chagas cardiomyopathy. **Physiother Res Int**, v. 19, n. 1, p. 8-15, Mar 2014.
- 85 BARDE, Y. A.; EDGAR, D.; THOENEN, H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. **EMBO J**, v. 1, n. 5, p. 549-53, 1982.
- 86 NAKAHASHI, T. *et al.* Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. **FEBS Lett**, v. 470, n. 2, p. 113-7, Mar 24 2000.
- 87 PAN, W. *et al.* Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. **Neuropharmacology**, v. 37, n. 12, p. 1553-61, Dec 1998.
- 88 KAREGE, F.; SCHWALD, M.; CISSE, M. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. **Neurosci Lett**, v. 328, n. 3, p. 261-4, Aug 16 2002.
- 89 CURRIE, J. *et al.* Cardio-respiratory fitness, habitual physical activity and serum brain derived neurotrophic factor (BDNF) in men and women. **Neurosci Lett**, v. 451, n. 2, p. 152-5, Feb 20 2009.
- 90 CONNOR, B. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 49, n. 1-2, p. 71-81, Oct 3 1997.

- 91 PARAIN, K. *et al.* Reduced expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. **Neuroreport**, v. 10, n. 3, p. 557-61, Feb 25 1999.
- 92 WEICKERT, C. S. *et al.* Reduced brain-derived neurotrophic factor in prefrontal cortex of patients with schizophrenia. **Mol Psychiatry**, v. 8, n. 6, p. 592-610, Jun 2003.
- 93 FERRER, I. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in Huntington disease. **Brain Res**, v. 866, n. 1-2, p. 257-61, Jun 2 2000.
- 94 CUNHA, A. B. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. **Neurosci Lett**, v. 398, n. 3, p. 215-9, May 8 2006.
- 95 KRABBE, K. S. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 50, n. 2, p. 431-8, Feb 2007.
- 96 EJIRI, J. *et al.* Possible role of brain-derived neurotrophic factor in the pathogenesis of coronary artery disease. **Circulation**, v. 112, n. 14, p. 2114-20, Oct 4 2005.
- 97 GOLDEN, E. *et al.* Circulating brain-derived neurotrophic factor and indices of metabolic and cardiovascular health: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. **PLoS One**, v. 5, n. 4, p. e10099, 2010.
- 98 JIANG, H. *et al.* Association of plasma brain-derived neurotrophic factor and cardiovascular risk factors and prognosis in angina pectoris. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 415, n. 1, p. 99-103, Nov 11 2011.
- 99 RUSSO-NEUSTADT, A. *et al.* Physical activity-antidepressant treatment combination: impact on brain-derived neurotrophic factor and behavior in an animal model. **Behav Brain Res**, v. 120, n. 1, p. 87-95, Apr 8 2001.
- 100 JUNG, S. H. *et al.* Association among basal serum BDNF, cardiorespiratory fitness and cardiovascular disease risk factors in untrained healthy Korean men. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 2, p. 303-11, Feb 2011.
- 101 MURAKAMI, S. *et al.* Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. **Neurosci Res**, v. 53, n. 2, p. 129-39, Oct 2005.
- 102 TANG, S. W. *et al.* Influence of exercise on serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in healthy human subjects. **Neurosci Lett**, v. 431, n. 1, p. 62-5, Jan 24 2008.
- 103 NOFUJI, Y. *et al.* Decreased serum brain-derived neurotrophic factor in trained men. **Neurosci Lett**, v. 437, n. 1, p. 29-32, May 23 2008.
- 104 KURITA, M. *et al.* Plasma brain-derived neurotrophic factor levels predict the clinical outcome of depression treatment in a naturalistic study. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e39212, 2012.

- 105 KORLEY, F. K. *et al.* Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor Has Diagnostic and Prognostic Value in Traumatic Brain Injury. **J Neurotrauma**, v. 33, n. 2, p. 215-25, Jan 15 2016.
- 106 O'BRYANT, S. E. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis**, v. 17, n. 2, p. 337-41, 2009.
- 107 RENJAN, V.; NURJONO, M.; LEE, J. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its association with remission status in Chinese patients with schizophrenia. **Psychiatry Res**, v. 220, n. 1-2, p. 193-6, Dec 15 2014.
- 108 RODIER, M. *et al.* Relevance of Post-Stroke Circulating BDNF Levels as a Prognostic Biomarker of Stroke Outcome. Impact of rt-PA Treatment. **PLoS One**, v. 10, n. 10, p. e0140668, 2015.
- 109 FUKUSHIMA, A. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor level predicts adverse clinical outcomes in patients with heart failure. **J Card Fail**, v. 21, n. 4, p. 300-6, Apr 2015.
- 110 KADOWAKI, S. *et al.* Additive clinical value of serum brain-derived neurotrophic factor for prediction of chronic heart failure outcome. **Heart Vessels**, v. 31, n. 4, p. 535-44, Apr 2016.
- 111 COSTA, H. S. *et al.* Assessment of Functional Capacity in Chagas Heart Disease by Incremental Shuttle Walk Test and its Relation to Quality-of-Life. **Int J Prev Med**, v. 5, n. 2, p. 152-8, Feb 2014.
- 112 LANG, R. M. *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. **J Am Soc Echocardiogr**, v. 18, n. 12, p. 1440-63, Dec 2005.
- 113 WEBER, K. T. *et al.* Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic cardiac failure. **Circulation**, v. 65, n. 6, p. 1213-23, Jun 1982.
- 114 AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. **ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Exercise Prescription**. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2006.
- 115 BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v. 1, n. 8476, p. 307-10, Feb 8 1986.
- 116 SCHNEIDER, D. J. *et al.* Differential effects of anticoagulants on the activation of platelets *ex vivo*. **Circulation**, v. 96, n. 9, p. 2877-83, Nov 4 1997.
- 117 TRAJKOVSKA, V. *et al.* Measurements of brain-derived neurotrophic factor: methodological aspects and demographical data. **Brain Res Bull**, v. 73, n. 1-3, p. 143-9, Jun 15 2007.

- 118 WARE, J. E., JR.; SHERBOURNE, C. D. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. **Med Care**, v. 30, n. 6, p. 473-83, Jun 1992.
- 119 CICONELLI, R. M. *et al.* Tradução para a língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). **Rev Bras Reumatol**, v. 39, p. 143-150, 1999.

# ANEXO A

## APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Níveis circulantes do fator neurotrófico derivado do cérebro em sujeitos com doença de Chagas após esforço agudo máximo e sua correlação com capacidade funcional, qualidade de vida e parâmetros ecocardiográficos.

**Pesquisador:** Manoel Otávio da Costa Rocha

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 03993912.6.0000.5149

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da UFMG

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 156.389

**Data da Relatoria:** 06/11/2012

#### Apresentação do Projeto:

Doenças Infecciosas e Parasitárias da UFMG conforme critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão são ser portador de cardiopatia chagásica confirmado por três testes sorológicos positivos para *Trypanosoma cruzi*; apresentar condição clínica estável; ter idade entre 30 e 65 anos; sedentários; sem cardiopatia de outras causas ou outras comorbidades. Os critérios de exclusão são uso recente de álcool ou drogas, realização de transfusão sanguínea nas últimas 4 semanas, uso de medicação para transtorno psicológico, ter realizado atividades de aquecimento antes dos testes de esforço e não estar em condições de realizar qualquer exame do estudo.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Comparar o efeito agudo do esforço de intensidade máxima sobre os níveis de BDNF de pacientes chagásicos e correlacionar os níveis de BDNF com a capacidade funcional, qualidade de vida e parâmetros ecocardiográficos.

**Objetivo Secundário:**

Determinar a capacidade funcional de medida direta do consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2</sub>) pelo teste cardiopulmonar e de medida indireta pelo Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6') e pelo Shuttle Walk Test (SWT); Verificar qual teste de medida indireta (TC6' ou SWT) tem maior correlação com o VO<sub>2</sub> avaliado pelo teste cardiopulmonar (gold-standard) na população chagásica;

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad. Sl 2005

**Bairro:** Unidade Administrativa II

**CEP:** 31.270-901

**UF:** MG

**Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** 3134-0945

**Fax:** 3134-0945

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

Comparar os níveis circulantes de BDNF em repouso e após o esforço máximo em pacientes chagásicos;  
Aplicar os questionários de qualidade de vida SF-36 (geral) e Minnesota Living with Heart Failure (específico);  
Correlacionar os níveis circulantes de BDNF com capacidade funcional (máxima e submáxima), parâmetros ecocardiográficos de função sistólica e diastólica e qualidade de vida.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos relacionados aos procedimentos de testagem estão bem avaliados e descritos no projeto e no TCLE. Além disso, foram previstas medidas para minimizar e/ou atender eventuais complicações clínicas decorrentes dos procedimentos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Os objetivos são claros e exequíveis e a pesquisa tem potencial para gerar informação científica nova.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Folha de rosto devidamente assinada; carta do DEPE/HC/UFMG informando que o projeto foi recebido para avaliação; termo de concordância do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG, autorizando o desenvolvimento do projeto em suas dependências; carta de anuência do HC/UFMG, autorizando o desenvolvimento do projeto, mas não do ambulatório onde será desenvolvida a pesquisa; parecer substanciado do HC/UFMG, recomendando o projeto; termo dos pesquisadores, se comprometendo a cumprir a Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde; declaração de apoio institucional do Departamento de Clínica Médica; aprovação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical. O TCLE está claro e corretamente estruturado.

**Recomendações:**

Recomendo à aprovação.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Recomendo a aprovação.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** 3134-0945 **Fax:** 3134-0945 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br, coep@reitoria.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



BELO HORIZONTE, 28 de Novembro de 2012

Assinador por:  
Maria Teresa Marques Amaral  
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901

UF: MG Município: BELO HORIZONTE

Telefone: 3134-0945

Fax: 3134-0945

E-mail: coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

## ANEXO B

### INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE



#### QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA -

Nome: \_\_\_\_\_  
Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade : \_\_\_\_ Sexo: F ( ) M ( )

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação !

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

**1a** Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias \_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**1b** Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_

**2a.** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar

CENTRO COORDENADOR DO IPAQ NO BRASIL- CELAFISCS -  
INFORMAÇÕES ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL  
Tel-Fax: - 011-42298980 ou 42299643. E-mail: celafiscs@celafiscs.com.br  
Home Page: www.celafiscs.com.br IPAQ Internacional: www.ipaq.ki.se

**moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**2b.** Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**3a** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**3b** Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

**4a.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana**?  
\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_ minutos

**4b.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana**?  
\_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_ minutos

#### **PERGUNTA SOMENTE PARA O ESTADO DE SÃO PAULO**

5. Você já ouviu falar do Programa Agita São Paulo? ( ) Sim ( ) Não

6.. Você sabe o objetivo do Programa? ( ) Sim ( ) Não

CENTRO COORDENADOR DO IPAQ NO BRASIL – CELAFISCS -  
INFORMAÇÕES ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL  
Tel-Fax: – 011-42298980 ou 42299643. E-mail: celafiscs@celafiscs.com.br  
Home Page: www.celafiscs.com.br IPAQ Internacional: www.ipaq.ki.se

## ANEXO C

### SHORT-FORM HEALTH SURVEY (SF-36)

Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida -SF-36

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Função exercida no trabalho:

\_\_\_\_\_

Há quanto tempo exerce essa função: \_\_\_\_\_

**Instruções:** Esta pesquisa questiona você sobre sua saúde. Estas informações nos manterão informados de como você se sente e quão bem você é capaz de fazer atividades de vida diária. Responda cada questão marcando a resposta como indicado. Caso você esteja inseguro em como responder, por favor, tente responder o melhor que puder.

1- Em geral você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito Boa	Boa	Ruim	Muito Ruim
1	2	3	4	5

2- Comparada há um ano atrás, como você se classificaria sua idade em geral, agora?

Muito Melhor	Um Pouco Melhor	Quase a Mesma	Um Pouco Pior	Muito Pior
1	2	3	4	5

3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. Devido à sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?

Atividades	Sim, dificulta muito	Sim, dificulta um pouco	Não, não dificulta de modo algum
a) Atividades Rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos.	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d) Subir vários lances de escada	1	2	3
e) Subir um lance de escada	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g) Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h) Andar vários quarteirões	1	2	3
i) Andar um quarteirão	1	2	3
j) Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades.	1	2
d) Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra).	1	2

5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como se sentir deprimido ou ansioso)?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.	1	2

6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?

De maneira alguma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

9- Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime de maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.

	Todo Tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a) Quanto tempo você tem se sentindo cheio de vigor, de vontade, de força?	1	2	3	4	5	6
b) Quanto tempo você tem se sentido uma	1	2	3	4	5	6

pessoa muito nervosa?						
c) Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode anima-lo?	1	2	3	4	5	6
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranqüilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo você tem se sentido com muita energia?	1	2	3	4	5	6
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10- Durante as últimas 4 semanas, quanto de seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?

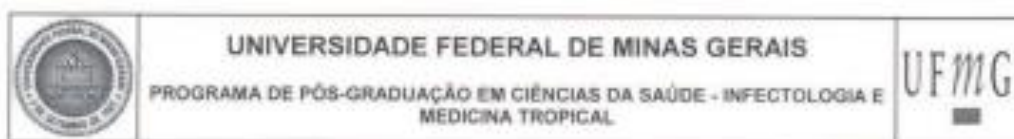
Todo Tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a) Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

## ANEXO D

### ATA DA DEFESA



#### ATA DA DEFESA DE TESE DO ALUNO HENRIQUE SILVEIRA COSTA

Realizou-se, no dia 24 de junho de 2016, às 14:00 horas, Sala 340 - 3º andar da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 147ª defesa de tese, intitulada "Avaliação funcional pelo Teste de Caminhada de Seis Minutos, resposta aguda do BDNF ao esforço e seu valor prognóstico na cardiopatia chagásica", apresentada por HENRIQUE SILVEIRA COSTA, número de registro 2013708216, graduado no curso de FISIOTERAPIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha - Orientador (UFMG), Profa. Márcia Maria Oliveira Lima (UFVJM), Profa. Lidiane Aparecida Pereira de Sousa (Newton Paiva), Prof. Bruno Ramos Nascimento (UFMG), Profa. Regina Márcia Faria de Moura (Newton Paiva), Profa. Vanessa Amaral Mendonça (UFVJM).

A Comissão considerou a tese:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, foi lavrada a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 24 de junho de 2016.

  
Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

  
Profa. Márcia Maria Oliveira Lima

  
Profa. Lidiane Aparecida Pereira de Sousa

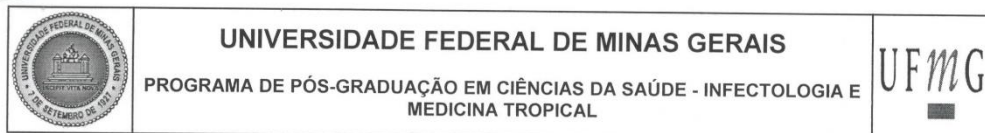
  
Prof. Bruno Ramos Nascimento

  
Profa. Regina Márcia Faria de Moura

  
Profa. Vanessa Amaral Mendonça

## ANEXO E

### FOLHA DE APROVAÇÃO DA DEFESA



#### FOLHA DE APROVAÇÃO

**"Avaliação funcional pelo Teste de Caminhada de Seis Minutos, resposta aguda do BDNF ao esforço e seu valor prognóstico na cardiopatia chagásica"**

**HENRIQUE SILVEIRA COSTA**

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Infectologia e Medicina Tropical.

Aprovada em 24 de junho de 2016, pela banca constituída pelos membros:



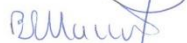
Prof. Manoel Otavio da Costa Rocha - Orientador  
UFMG



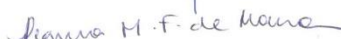
Prof. Márcia Maria Oliveira Lima  
UFVJM



Prof. Lidiane Aparecida Pereira de Sousa  
Newton Paiva



Prof. Bruno Ramos Nascimento  
UFMG



Prof. Régina Márcia Faria de Moura  
Newton Paiva



Prof. Vanessa Amaral Mendonca  
UFVJM

Belo Horizonte, 24 de junho de 2016.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar da pesquisa “*Níveis circulantes do fator neurotrófico derivado do cérebro em sujeitos com doença de Chagas após esforço agudo máximo e sua correlação com capacidade funcional, qualidade de vida e parâmetros ecocardiográficos*” desenvolvida por Henrique Silveira Costa, aluno do mestrado em Infectologia e Medicina Tropical da UFMG sob orientação do Professor Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha. Antes de aceitar participar desta pesquisa, é necessário que você leia e compreenda as explicações sobre os procedimentos que estamos propondo. Este Termo de Consentimento descreve o objetivo, os procedimentos, os benefícios, os riscos e possíveis desconfortos que este estudo pode causar. Por isso, leia estas informações com bastante atenção.

**OBJETIVO:** Esta pesquisa pretende avaliar os níveis da substância chamada de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e da sua capacidade física que podem estar alteradas pela Doença de Chagas. Para isso você será submetido a algumas avaliações.

**RESUMO:** Você responderá a um questionário informando a respeito de seus dados pessoais e hábitos de saúde. Você encontra-se livre para não responder alguma pergunta se lhe for conveniente e pode sair da entrevista a qualquer momento caso não possa continuá-la. Após ter respondido as perguntas, será submetido a uma avaliação física, na qual está incluída a medida da pressão arterial, batimentos do coração, do peso e altura.

Para avaliar a substância chamada de BDNF será feita uma coleta de sangue. O objetivo é verificar se essa substância, que está relacionada com a capacidade de fazer exercício, está aumentada ou diminuída pela doença de Chagas. Todo o material usado na coleta de sangue será descartável e realizado por um profissional experiente para reduzir o seu desconforto. Mesmo assim, é comum aparecer hematomas ou manchas roxas após a coleta, o que sairá após poucos dias. Para avaliar a capacidade física você se submeterá ao teste cardiopulmonar na esteira que será realizado por médicos do serviço de Ergometria do Hospital das Clínicas/UFMG. Além dele, serão realizados outros dois testes de caminhada fora da esteira: o teste de caminhada de seis minutos (nele você deve caminhar o mais rápido possível sem correr durante 6 minutos) e um teste chamado de teste de caminhada com aumento de carga (nele você receberá instruções para caminhar em um corredor de 10 metros e aumentar a velocidade a cada minuto com aviso do fisioterapeuta). Ambos os testes

realizados em um corredor para verificar a pressão arterial, os batimentos do coração e a distância caminhada durante estes testes. A realização dos dois tem o objetivo de comparar qual deles é mais apropriado para ser realizado em pacientes doença de Chagas. Caso você apresente qualquer sintoma nos testes como vertigens, câibras, dor torácica e/ou sudorese intensa, é aconselhável interromper o mesmo. É importante reconhecer que você poderá parar quando quiser, caso sinta qualquer outro desconforto. Equipamento emergencial e pessoal treinado está disponível para lidar com as situações incomuns que possam surgir. Você também será convidado a responder dois questionários sobre qualidade de vida. As respostas são sigilosas e você só responderá se não houver desconforto ou se assim quiser. O importante é que você encontre-se livre para abandonar a pesquisa a qualquer momento caso não possa prosseguir ou não queira, tendo garantido a sua continuidade no tratamento que vem realizando no ambulatório de doenças Infeciosas e Parasitárias/HC/UFMG, sem qualquer prejuízo ao mesmo.

**BENEFÍCIOS:** Os exames que você vai realizar irão trazer novos esclarecimentos sobre o seu estado de saúde e podem ajudar seu médico no seu tratamento. Além disto, a sua participação neste estudo poderá contribuir muito para ampliar o conhecimento médico da insuficiência cardíaca, podendo contribuir, no futuro, para a melhoria do tratamento desta doença.

Não haverá nenhuma forma de ressarcimento e/ou indenização financeira.

**CONFIDENCIALIDADE:** Os resultados de seus exames serão analisados em sigilo e você não será identificado em qualquer trabalho que resulte desta pesquisa. No entanto, o pesquisador, o orientador da pesquisa e, sob certas circunstâncias, o Comitê de Ética em pesquisa UFMG, poderão ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer seus registros para o orientador e para o comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**DESLIGAMENTO:** A sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento do estudo não acarretará penalidades ou perda de benefícios aos quais você já tem direito. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento, sem prejuízo para a continuidade de seu tratamento.

**Liberdade de consentimento:** Concordo voluntariamente em participar do estudo acima proposto. Li este formulário, ou me foi lido e aceito os riscos, os regulamentos e as normas estabelecidas. Conhecendo essas condições e tendo tido a oportunidade de formular perguntas que me foram respondidas satisfatoriamente, consinto em participar.

Data:

Assinatura do Paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador: \_\_\_\_\_

Pesquisadores:

Henrique Silveira Costa – fone 3275-4205

Manoel Otávio da Costa Rocha – fone 3409-9437

Caso você tenha alguma dúvida sobre os seus direitos como paciente de pesquisa, você deverá ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

*Comitê de Ética em Pesquisa/UFMG*

***Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005***

***Campus Pampulha / Belo Horizonte, MG - Brasil***

***Telefone: (31) 3409-4592***