

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Treinamento de caminhada na claudicação intermitente: respostas
hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo
em repouso e após uma caminhada máxima

Aluísio Andrade Lima

São Paulo

2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Treinamento de caminhada na claudicação intermitente: respostas
hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo
em repouso e após uma caminhada máxima

Aluísio Andrade Lima

São Paulo

2017

Catalogação da Publicação
Serviço de Biblioteca
Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo

Andrade-Lima, Aluísio

Treinamento de caminhada na claudicação intermitente:
respostas hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse
oxidativo em repouso e após uma caminhada máxima / Aluísio
Andrade Lima. – São Paulo : [s.n.], 2017.

141p.

Tese (Doutorado) - Escola de Educação Física e Esporte
da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Lúcia de Moraes Forjaz

1. Fisiologia do exercício 2. Exercício físico 3. Doença arterial
4. Risco cardiovascular 5. Caminhada I. Título.

ALUÍSIO ANDRADE LIMA

Treinamento de caminhada na claudicação intermitente: respostas
hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo
em repouso e após uma caminhada máxima

Tese apresentada à Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Estudos Biodinâmicos
da Educação Física e Esporte

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Lúcia de
Moraes Forjaz

São Paulo

2017

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ANDRADE-LIMA, Aluísio

Título: Treinamento de caminhada na claudicação intermitente: respostas hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo em repouso e após uma caminhada máxima

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, por tantas bênçãos e por me manter firme ao longo dessa jornada.

À minha querida esposa, Manuele, por me aconselhar e estar presente em todos os momentos, nos mais fáceis e, principalmente nos mais difíceis, me apoiando e incentivando. Certamente, não seria possível desenvolver esse trabalho sem sua companhia. Obrigado por aguentar meu mau humor e estresse durante esses 4 anos de doutorado. Então, essa tese também é sua! Te amo demais!

Aos meus amados pais, Ricardo e Ione, e meu irmão, Cadinho, por todo incentivo e apoio incondicional, não só durante o doutorado, mas também ao longo de toda minha jornada acadêmica. Essa tese só existe por conta de todo carinho, amor e orações investidos por vocês! Obrigado porque apesar de toda saudade e distância, vocês foram meu porto seguro durante todos esses anos. Amo vocês.

À minha segunda mãe e sogra, Marluce, e ao meu cunhado, Pedro, por todo amor, incentivo e hospitalidade, além dos incríveis almoços baianos. Tenho vocês guardados no meu coração, obrigado por todos os conselhos!

À minha orientadora, profa. Cláudia Forjaz, pela oportunidade de poder fazer parte do LAHAM e acreditar nesse projeto desafiador. Além de todo o suporte técnico e científico, sendo sem dúvidas um exemplo de orientadora e acima de tudo, um exemplo de profissional dedicada.

Ao prof. Raphael Ritti Dias, por ter me aceitado como aluno ainda na iniciação científica, o que modificou e abriu completamente minha mente para a ciência. Além disso, agradeço por sua parceria e conselhos que contribuíram para o meu crescimento acadêmico e chegada até o doutorado.

Aos amigos do grupo da claudicação, principalmente Natan, Marcel e Beto Burns, que contribuíram bastante para o desenvolvimento desse trabalho, durante as coletas e análise de dados. Certamente, finalizar esse trabalho sem a ajuda de ambos não seria possível.

Aos amigos do LAHAM (Tiago, Leandro, Fecchio, Assombroso, Hélcio, Júlio, João, Teresa e Modesto) por todos os momentos de alegria, que com certeza ajudaram a aliviar a pressão e desopilar nos momentos mais estressantes ao longo do doutorado. A amizade de vocês foi fundamental para que eu conseguisse finalizar esse trabalho.

Aos amigos do laboratório de fisiologia (Bechara, Bozi, Vanessa e Paulo), por toda ajuda ao longo do desenvolvimento das minhas análises. Além desses, gostaria de agradecer

especialmente à Rodrigo pela paciência e investimento do seu tempo em uma excelente contribuição nas diversas fases dessas análises, inclusive nas idas e vindas do ICB.

Ao Luiz Riani, pelo auxílio com a condução dos testes ergoespirométricos, sempre com bom humor e muita competência.

Ao professor Anthony Leicht, e aos demais colegas da James Cook University pelo suporte dado durante o meu doutorado sanduíche em Townsville, Austrália.

Aos professores membros da banca, por contribuírem para o enriquecimento deste trabalho e, especialmente, às professoras Patrícia Brum e Edilamar Menezes, por permitirem a utilização do laboratório para minhas análises. Esse apoio foi fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

Aos médicos do Ambulatório de Cirurgia Vascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, em especial ao Dr. Nelson Wolosker, Dr. Glauco Saez e Dr. Antônio Zerati pela parceira, auxílios nos exames clínicos do estudo e recrutamento dos pacientes.

Aos professores Lisete Michelini, Paulo Ramires, Maria Urbana Rondon, Carlos Ugrinowitsch e outros professores, que direta ou indiretamente, contribuíram para esse trabalho.

Aos amigos do GEPICARDIO (Henrique, Breno, Marília, Bruno, Cucato e Wagner), pelo apoio, companhia e pelos momentos divertidos que fizeram minha estadia em São Paulo muito mais agradável.

Aos funcionários da Escola de Educação Física e Esporte da USP, Ilza, Márcio, Cláudia, Mariana, Catarina, Alcina e Shirley, por todo o suporte administrativo.

Aos voluntários desse estudo, pois sem eles nada disso seria possível.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (141477/2015-6), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2015/13800-0) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PROEX e PDSE: 88881.132404/2016-01), pelo fomento desta pesquisa e apoio durante o doutorado sanduíche.

RESUMO

ANDRADE-LIMA, A. Treinamento de caminhada na claudicação intermitente: respostas hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo em repouso e após uma caminhada máxima. 2017. 141 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

O aumento da morbimortalidade cardiovascular nos indivíduos com doença arterial periférica (DAP) e claudicação intermitente (CI) se associa a alterações hemodinâmicas, autonômicas, endoteliais, inflamatórias e de estresse oxidativo, que são inerentes ao desenvolvimento da própria doença. O treinamento de caminhada (TC) pode atenuar os processos fisiopatológicos que cursam com a doença, o que precisa ser melhor investigado. Por outro lado, a execução da caminhada até a dor máxima nesses indivíduos provoca episódios de isquemia, que geram alterações nesses processos e promovem sobrecarga cardiovascular. É possível que o TC possa atenuar essas respostas após o esforço máximo, o que também foi pouco investigado. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi verificar, em indivíduos com DAP e CI, o efeito de um TC sobre a função e regulação cardiovasculares, bem como sobre marcadores locais (músculo) e sistêmicos (sangue) de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação, avaliados em repouso e após uma caminhada até a dor máxima de claudicação. Para tanto, 32 homens com DAP e CI foram divididos aleatoriamente em dois grupos: TC ($n = 16$, 2 sessões/semana, 15 séries de 2 min de caminhada na frequência cardíaca do limiar de dor intercaladas com 2 min de pausa passiva) e controle (CO, $n = 16$, 2 sessões/semana, 30 min alongamento). No início e ao final do estudo, os indivíduos realizaram uma caminhada máxima e as seguintes avaliações foram realizadas pré e pós-caminhada: função cardiovascular (pressão arterial – PA, frequência cardíaca – FC, duplo produto – DP); regulação autonômica cardiovascular (variabilidade da FC e da PA e sensibilidade barorreflexa – SBR); função endotelial (óxido nítrico sanguíneo – NO e óxido nítrico sintase muscular – eNOS); estresse oxidativo (catalase – CAT, superóxido dismutase – SOD, peroxidação lipídica – LPO no sangue e no músculo); e inflamação (interleucina-6 – IL-6, proteína C-reativa – PCr, fator de necrose tumoral alfa – TNF-alfa, moléculas de adesão intercelular – ICAM, moléculas de adesão vascular – VCAM no sangue e no músculo). Os dados foram avaliados pela ANOVA de 2 fatores, empregando-se o teste de *post-hoc* de Newman-Keuls e adotando-se $P < 0,05$ como significante. No repouso, o TC diminuiu a sobrecarga cardiovascular (PA sistólica, PA média, FC e DP) e o balanço simpatovagal cardíaco; aumentou a SBR, a biodisponibilidade de NO, a eNOS e a defesa antioxidante (SOD e CAT no sangue; SOD no músculo), além de reduzir o perfil inflamatório (PCr, ICAM e VCAM no sangue; IL-6 e PCr no músculo) (todos, $p < 0,05$). Em relação à resposta à caminhada máxima, o TC: 1) não modificou o aumento da sobrecarga cardiovascular ao esforço, mas diminuiu a sobrecarga absoluta após o exercício (PA sistólica, PA média e DP); 2) diminuiu a resposta do NO sanguíneo e da eNOS muscular, sem alterar os valores absolutos atingidos após o exercício; 3) não modificou a resposta e os valores absolutos pós-exercício da capacidade antioxidante (SOD e CAT) e do estresse oxidativo (LPO) sistêmicos e locais, mas impediu o aumento da LPO pós-exercício observado no grupo CO; e 4) aumentou a resposta inflamatória sistêmica e local ao exercício (TNF-alfa, ICAM e VCAM no sangue e IL-6, PCr e VCAM no músculo) com manutenção da inflamação sistêmica pós-exercício e redução da inflamação local (VCAM). Em conclusão, em homens com DAP e CI, o TC melhora a modulação autonômica e a função cardiovascular, aumenta a biodisponibilidade de NO e diminui o estresse oxidativo e a inflamação tanto sistêmicos quanto locais. Além disso, o TC, de modo geral, não altera ou mesmo reduz as respostas desses marcadores após uma caminhada até a dor máxima de claudicação.

Palavras-chave: Exercício; doença arterial periférica; risco cardiovascular; aterosclerose.

ABSTRACT

ANDRADE-LIMA, A. Walking training in intermittent claudication: hemodynamic, autonomic, inflammatory and oxidative stress responses at rest and after maximal walking. 2017. 141 f. Thesis (PhD in Science) – School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo. 2017.

The increase in cardiovascular morbimortality in individuals with peripheral artery disease (PAD) and intermittent claudication (IC) is associated with alterations in cardiovascular function, cardiac autonomic modulation, endothelial function, oxidative stress and inflammation, which are processes inherent to the disease development. Walking training (WT) may attenuate these pathophysiological processes, however, knowledge about these effects of WT is scarce and controversial. On the other hand, in these individuals, a bout of walking promotes ischemic episodes that may exacerbate these processes, leading to cardiovascular overload. WT might attenuate these post-walking responses; however, these effects were also poorly studied. Thus, the aim of the present study was to evaluate, in individuals with PAD and IC, the effects of WT on cardiovascular autonomic modulation and function as well as on blood and muscle markers of endothelial function, oxidative stress and inflammation assessed at rest and after a walking until maximal leg pain. Thirty-two men with PAD and IC were randomly allocated in two groups: WT (n = 16, 2 sessions/week, 15 bouts of 2 min walking at an intensity corresponding to the heart rate of the pain threshold interspersed with 2 min of passive pause) and control (CO, n = 16, 2 sessions/week, 30 min of stretching). At the beginning and end of the study, the subjects underwent a maximal walking and the following evaluations were done pre and post-exercise: cardiovascular function (blood pressure – BP, heart rate – HR, rate pressure product – RPP); cardiovascular autonomic modulation (HR and BP variabilities and baroreflex sensitivity – BRS); endothelial function (blood nitric oxide – NO and muscle nitric oxide synthase – eNOS); oxidative stress (catalase – CAT, superoxide dismutase – SOD, lipid peroxidation – LPO measured in blood and muscle); and inflammation (interleukin-6 – IL-6, C-reactive protein – CRP, tumor necrosis factor alpha – TNF-alpha, intercellular adhesion molecules – ICAM, vascular adhesion molecules – VCAM measured in blood and muscle). Data were evaluated by 2-way ANOVA, and Newman-Keuls test was used as a post-hoc. P <0.05 was set as significant. At rest, WT decreased cardiovascular overload (systolic BP, mean BP, HR and RPP) and sympathovagal balance; increased BRS, blood NO, muscle eNOS and antioxidant defence (blood SOD and CAT, and muscle SOD), besides decreasing inflammatory markers (blood CRP, ICAM and VCAM and muscle IL-6 and CRP). Concerning the response after maximal walking, WT: 1) did not change cardiovascular overload increase after the effort, but reduced the absolute post-exercise overload (systolic BP, mean BP and RPP); 2) decreased blood NO and muscle eNOS responses without changing the absolute values achieved after the exercise; 3) did not change systemic and local antioxidant (SOD and CAT) and oxidative stress (LPO) responses as well as post-exercise absolute values; but mitigated the increase in post-exercise oxidative stress observed in the CO group; and 4) increased systemic and local inflammatory responses (blood TNF-alpha, ICAM e VCAM and muscle IL-6, PCr e VCAM), but did not change post-exercise absolute systemic inflammation and decreased post-exercise absolute local inflammation (VCAM). In conclusion, in men with PAD and IC, WT improves cardiovascular function and autonomic modulation, increases NO bioavailability and decreases systemic and local oxidative stress and inflammation. In addition, in general, WT does not alter or even reduces these processes responses after a walking until maximal claudication pain.

Keywords: Exercise; peripheral arterial disease; cardiovascular risk; atherosclerosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Evolução do processo aterosclerótico. VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; LPL – Lipólise. Eventos envolvidos na oxidação do LDL e formação da placa aterosclerótica. A figura apresenta a transformação da VLDL em LDL por lipólise, entrada e acúmulo de LDL na íntima do vaso (1-5); em seguida, o início da cascata pró-inflamatória, entrada dos macrófagos e sua associação com o LDL, formação das células espumosas e proliferação das células do músculo liso (6-13).....25

Figura 2 – Representação esquemática do protocolo experimental. DAP – Doença arterial periférica; PA – Pressão arterial auscultatória; FC – Frequência cardíaca.....53

Figura 3 – Protocolo experimental de exercício máximo. MAC – Modulação autonômica cardiovascular; PA – Pressão arterial auscultatória; FC – Frequência cardíaca; VO₂ – consumo de oxigênio.....55

Figura 4 – Seguimento da participação dos indivíduos ao longo do estudo. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; ITB – índice tornozelo-braço; ECG – Eletrocardiograma; CO – Grupo controle; TC – Grupo treinamento de caminhada.....58

Figura 5 – Pressão arterial sistólica (PAS – Painel A), pressão arterial média (PAM – Painel B), frequência cardíaca (FC – Painel C) e duplo produto (DP – Painel D) medidos em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média ± erro padrão.....66

Figura 6 – Variância total (VT – Painel A), banda de baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca (BF – Painel B), banda de alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca (AF – Painel C), razão entre essas bandas (BF/AF – Painel D) e sensibilidade barorreflexa (SBR – Painel E) medidas em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média ± erro padrão.....68

Figura 7 – Óxido nítrico (NO – Painel A), superóxido dismutase (SOD – Painel B), catalase (CAT – Painel C), peroxidação lipídica (LPO – Painel D), proteína C-reativa (PCr – Painel E), fator de necrose tumoral (TNF-alfa – Painel F), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel G), molécula de adesão vascular (VCAM – Painel H) medidos no sangue em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média ± erro padrão.....70

Figura 8 – Óxido nítrico sintase (eNOS – Painel A), catalase (CAT – Painel B), peroxidação lipídica (LPO – Painel C), interleucina-6 (IL-6 – Painel D), proteína C-reativa (PCr – Painel E), fator de necrose tumoral (TNF-alfa – Painel F), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel G), molécula de adesão vascular (VCAM – Painel H) medidos no músculo em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média ± erro padrão.....73

Figura 9 – Respostas da sensibilidade barorreflexa (SBR) avaliada após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....78

Figura 10 – Respostas do óxido nítrico (NO – Painel A), fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa – Painel B), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel C) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel D) sanguíneos avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....80

Figura 11 – Respostas do óxido nítrico sintase (eNOS – Painel A), catalase (CAT – Painel B), peroxidação lípica (LPO – Painel C), interleucina-6 (IL-6 – Painel D), proteína C-reativa (PCR – Painel E) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel F) obtidas no músculo após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos do grupo controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....82

Figura 12 – Pressão arterial sistólica (PAS – Painel A), pressão arterial diastólica (PAD – Painel B), pressão arterial média (PAM – Painel C), frequência cardíaca (FC – Painel D) e duplo produto (DP – Painel E) medidos após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....85

Figura 13 – Peroxidação lipídica (LPO) medida no sangue após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....88

Figura 14 – Interleucina-6 (IL-6 – Painel A), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel B) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel C) obtidas no músculo após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.....90

Figura 15 – Modelo proposto para as respostas obtidas após a caminhada máxima em indivíduos com claudicação intermitente. Oxigênio – O_2 ; Óxido nítrico sintase – eNOS; Catalase – CAT; Peroxidação lipídica – LPO; Óxido nítrico – NO; Sistema nervoso simpático – SNS; Sistema nervoso parassimpático; Resistência vascular periférica – RVP; Pressão arterial – PA; Débito cardíaco – DC; Volume sistólico – VS; Frequência cardíaca – FC.....103

Figura 16 – Modelo proposto para as respostas observadas após o TC avaliadas em repouso nos indivíduos com claudicação intermitente. Oxigênio – O_2 ; Óxido nítrico sintase – eNOS; Catalase – CAT; Peroxidação lipídica – LPO; Óxido nítrico – NO; Sistema nervoso simpático – SNS; Sistema nervoso parassimpático; Resistência vascular periférica – RVP; Pressão arterial – PA; Débito cardíaco – DC; Frequência cardíaca – FC.....110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos indivíduos avaliadas no início do estudo. Dados demonstrados no grupo todo e dividido nos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	59
Tabela 2 – Prevalências dos fatores de risco cardiovascular, das comorbidades cardiovasculares e do uso de medicamentos nos indivíduos do grupo controle (CO) e treinamento de caminhada (TC) avaliadas no início do estudo.....	60
Tabela 3 – Variáveis marcadoras da função cardiovascular avaliadas antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.....	61
Tabela 4 – Variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular avaliadas antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.....	62
Tabela 5 – Marcadores sanguíneos de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.....	63
Tabela 6 – Marcadores musculares de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.....	64
Tabela 7 – Variáveis marcadoras da capacidade de caminhada medidas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	65
Tabela 8 – Variáveis marcadoras de função cardiovascular avaliadas em repouso (pré-exercício) no início e final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	66
Tabela 9 – Variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular avaliadas em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	67
Tabela 10 – Marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no sangue em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	69
Tabela 11 – Marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no músculo em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	72
Tabela 12 – Estresses metabólico, cardiovascular, endotelial, oxidativo e inflamatório promovidos pela caminhada máxima realizada no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	75

Tabela 13 – Respostas das variáveis marcadoras da função cardiovascular avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	76
Tabela 14 – Respostas das variáveis relacionadas à modulação autonômica cardiovascular avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	77
Tabela 15 – Respostas dos marcadores sanguíneos de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	79
Tabela 16 – Resposta muscular dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	81
Tabela 17 – Valores das variáveis marcadoras de função cardiovascular medidos após as caminhadas máximas realizadas no início e final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	84
Tabela 18 – Valores das variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular medidos após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	86
Tabela 19 – Valores dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no sangue após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	87
Tabela 20 – Valores dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no músculo após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).....	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF _{R-R}	Banda de alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca
BF _{PAD}	Banda de baixa frequência da variabilidade da pressão arterial diastólica
BF _{PAS}	Banda de baixa frequência da variabilidade da pressão arterial sistólica
BF _{R-R}	Banda de baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca
CAT	Catalase
cDNA	DNA complementar
CI	Claudicação intermitente
CO	Grupo controle
CV	Cardiovascular
DAP	Doença arterial periférica
DC	Débito cardíaco
DIC	Distância de claudicação
DP	Duplo produto
DTC	Distância total de caminhada
ECG	Eletrocardiograma
eNOS	Óxido nítrico sintase
FC	Frequência cardíaca
FRC	Fatores de risco cardiovascular
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
ITB	Índice tornozelo/braço
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade

LPL	Lipólise
LPO	Peroxidação lipídica
MBF _{R-R}	Banda de muito baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca
NO	Óxido nítrico
NOA	Óxido Nítrico Analyzer
O ₂	Oxigênio
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PCr	Proteína C-reativa
RT-PCR	Técnica de Transcriptase Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase
RVP	Resistência vascular periférica
SBR	Sensibilidade barorreflexa
SNS	Sistema nervoso simpático
SOD	Superóxido dismutase
TC	Treinamento de caminhada
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa
VCAM	Molécula de adesão vascular
VEGF	Fator de crescimento endotelial
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VO ₂ pico	Consumo de oxigênio pico
VPA	Variabilidade da pressão arterial
VS	Volume sistólico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	21
2.1.Objetivo geral	21
2.2.Objetivos específicos	21
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1.Doença arterial periférica e claudicação intermitente	22
3.2.Doença arterial periférica: envolvimento da inflamação, disfunção endotelial, estresse oxidativo, regulação autonômica e alterações cardiovasculares	24
3.3.Morbimortalidade cardiovascular na doença arterial periférica: envolvimento da inflamação, disfunção endotelial, estresse oxidativo, regulação autonômica e alterações cardiovasculares.....	28
3.4.Tratamento dos pacientes com doença arterial periférica	30
3.5.Treinamento de caminhada: Efeito na capacidade de caminhada	31
3.6.Treinamento de caminhada: Efeito no risco cardiovascular.....	32
3.6.1. Treinamento de caminhada, função cardiovascular e regulação autonômica cardiovascular	32
3.6.2. Treinamento de caminhada, função endotelial, inflamação e estresse oxidativo.....	33
3.7.Resposta aguda ao exercício máximo.....	35
3.8.Treinamento de caminhada e resposta aguda ao exercício máximo	37
3.9.Considerações gerais da revisão	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1.Amostra	41
4.2.Exames preliminares.....	42
4.2.1. Avaliação clínica.....	42
4.2.2. Diagnóstico da doença arterial periférica.....	42
4.2.3. Diagnóstico de obesidade	43
4.2.4. Avaliação da pressão arterial	43
4.2.5. Avaliação dos diabéticos	43
4.2.6. Teste ergoespirométrico	44
4.3.Medidas	44
4.3.1. Frequência cardíaca.....	44
4.3.2. Pressão arterial	45
4.3.3. Duplo produto	45
4.3.4. Respiração	45
4.3.5. Modulação autonômica cardíaca	46
4.3.6. Dosagens sanguíneas	47
4.3.6.1. Óxido nítrico no sangue.....	47
4.3.6.2. Marcadores de estresse oxidativo no sangue	48
4.3.6.3. Marcadores inflamatórios no sangue	48
4.3.7. Dosagens musculares	49
4.3.7.1. Marcadores de estresse oxidativo no músculo	49
4.3.7.2. Expressão gênica da eNOS e dos marcadores inflamatórios no músculo...	50
4.4.Intervenções.....	51
4.4.1. Intervenção para todos os indivíduos	51
4.4.2. Treinamento de caminhada	52
4.4.3. Intervenção controle	52

4.5.Protocolo experimental.....	52
4.5.1. Sessões experimentais de caminhada máxima	53
4.6.Análise dos dados e análise estatística	55
5. RESULTADOS	57
5.1.Fluxograma da participação	57
5.2.Características da amostra	58
5.3.Objetivo 1. Respostas agudas à caminhada máxima	61
5.4.Objetivo 2. Efeito do treinamento de caminhada	65
5.4.1. Na capacidade funcional	65
5.4.2. Objetivo 2a. Na função cardiovascular, modulação autonômica cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados em repouso	65
5.4.3. No estresse produzido pela caminhada máxima	74
5.4.4. Nas respostas após a caminhada máxima	76
5.4.4.1.Objetivo 2b1. Efeito sobre a resposta (Δ) ao exercício.....	76
5.4.4.2.Objetivo 2b2. Efeito sobre os valores absolutos obtidos pós-exercício.....	83
6. DISCUSSÃO	92
6.1.Características da amostra	94
6.2.Efetividade do protocolo de treinamento de caminhada	96
6.3.Objetivo 1. Efeito de uma caminhada máxima nas respostas hemodinâmicas, autonômicas, de função endotelial, inflamatórias e de estresse oxidativo	97
6.4.Efeito do treinamento de caminhada nas respostas hemodinâmicas, autonômicas, de função endotelial, inflamatórias e de estresse oxidativo	105
6.4.1. Avaliadas em repouso	105
6.4.2. Avaliadas em resposta a uma caminhada máxima	112
6.5.Limitações do estudo	116
6.6.Implicações clínicas dos achados em geral	117
7. CONCLUSÕES	119
REFERÊNCIAS.....	120
ANEXO – Aprovação do Comitê de Ética da Escola de Educação Física Esporte ..	140

1. INTRODUÇÃO

A doença arterial periférica (DAP) caracteriza-se pela presença de oclusão nas artérias periféricas, principalmente, dos membros inferiores (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007). A prevalência de DAP varia de 3 a 10% da população adulta mundial, aumentando para 20% em indivíduos acima de 70 anos (SELVIN; ERLINGER, 2004; KROGER et al., 2006). No Brasil, 10,5% da população adulta apresenta DAP (MAKDISSE et al., 2008). Em geral, esses indivíduos apresentam redução importante na capacidade funcional (HIATT et al., 1988) e parte deles (estágio 2 da doença) tem dor nos membros inferiores durante a caminhada, sintoma denominado claudicação intermitente (CI) (MCDERMOTT; MEHTA; GREENLAND, 1999) e que implica em importante diminuição da qualidade de vida (SPRONK et al., 2007). Entretanto, o pior prognóstico nessa doença refere-se à morbimortalidade cardiovascular. Cinco anos após o diagnóstico, 20% dos indivíduos têm infarto agudo do miocárdio ou parada cardíaca e 15 a 30% deles morrem, sendo que 75% dessas mortes têm origem cardiovascular (WEITZ et al., 1996).

A principal causa da DAP é a aterosclerose (NORGREN et al., 2007; BREVETTI; SCHIANO; CHIARIELLO, 2008). Seu desenvolvimento caracteriza-se pela presença de fatores de risco cardiovascular (hipertensão, dislipidemia, diabetes, tabagismo), que afetam o endotélio, aumentando sua permeabilidade às lipoproteínas de baixa densidade (LDL). A oxidação dessas lipoproteínas na parede do vaso deflagra uma resposta imune, que inicia a formação da placa de ateroma, produz inflamação, reduz a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) e prejudica a vasodilatação (BLAKE; RIDKER, 2001; RIDKER, 2001; DE HARO et al., 2008). Esses processos reduzem o fluxo sanguíneo do membro afetado, deflagrando episódios de isquemia, que prejudicam o metabolismo celular, amplificando a resposta inflamatória e de estresse oxidativo (SILVESTRO et al., 2002; TURTON et al., 2002; SIGNORELLI et al., 2003; PALMER-KAZEN; RELIGA; WAHLBERG, 2009).

Estudos têm mostrado que o grau de limitação funcional dos indivíduos com DAP e CI é proporcional ao grau de ativação dos processos de inflamação (MCDERMOTT et al., 2003; NYLAENDE et al., 2006), estresse oxidativo (GARDNER et al., 2017) e biodisponibilidade de NO (BOGER et al., 1998; BALTGALVIS et al., 2014; GRENON et al., 2014). No mesmo sentido, inflamação, estresse oxidativo e metabolismo do NO prejudicado também se associam a elevado risco cardiovascular e mortalidade nessa população (VIDULA et al., 2008; CRIQUI et al., 2010; VOGL et al., 2015). Em paralelo às alterações anteriormente descritas, os indivíduos com CI apresentam também redução da modulação parassimpática cardíaca e

aumento da modulação simpática cardíaca e vasomotora (GOERNIG et al., 2008). Essas disfunções autonômicas se associam, em diversas doenças, às alterações inflamatórias (VON KANEL et al., 2011), endoteliais (TRUCCOLO et al., 2013) e de estresse oxidativo (THIYAGARAJAN et al., 2012), o que também deve ocorrer nos indivíduos com DAP. Todas essas alterações podem contribuir para modificações na função cardiovascular, com aumento da pressão arterial (PA) e da sobrecarga cardíaca, o que pode explicar, em parte, a alta morbimortalidade cardiovascular na DAP (WEITZ et al., 1996; MCDERMOTT; TIAN; LIU; et al., 2008). Assim, o conhecimento dos efeitos das intervenções terapêuticas nesses processos é fundamental para o entendimento das bases fisiológicas do tratamento e redução do risco cardiovascular nesses indivíduos.

A prática regular de exercício físico, principalmente o treinamento de caminhada (TC), é apontado como a forma inicial e preferencial de tratamento para indivíduos com DAP e CI (HIRSCH et al., 2006) devido ao fato de já estar bem demonstrado na literatura o efeito benéfico desse treinamento no aumento da capacidade funcional e da qualidade de vida desses indivíduos (GARDNER; POEHLMAN, 1995). No entanto, o efeito do TC sobre a função e regulação cardiovascular na DAP apresenta resultados controversos na literatura. Um estudo (IZQUIERDO-PORRERA et al., 2000) demonstrou que o TC reduz a pressão arterial sistólica (PAS) de repouso nessa população, enquanto que outros estudos (BRENDLE et al., 2001; NG et al., 2005; ROBERTS et al., 2008) não observaram modificações significantes. Em relação à frequência cardíaca (FC) de repouso, enquanto Roberts et al. (2008) demonstraram diminuição, Ng et al. (2005) não observaram modificações. Em relação à modulação autonômica cardiovascular, dois estudos (SANDERCOCK et al., 2007; LEICHT; CROWTHER; GOLLEDGE, 2011) não observaram nenhuma alteração com o TC. A controvérsia ou ausência de efeito do TC observada nesses estudos pode ser explicada, pelo menos em parte, pelos diferentes protocolos de treinamento empregados. Assim, na tentativa de contribuir para esclarecer essa problemática, desenvolvemos num estudo anterior (CHEHUEN et al., 2017), um protocolo de TC (15 séries de 2 minutos de caminhada na FC do limiar de dor seguidos de 2 minutos de pausa passiva), que foi capaz de produzir estímulo metabólico acima do limiar anaeróbico, estresse cardiovascular acima de 80% da FC pico e dor de claudicação durante sua execução (CUCATO et al., 2013). Esse treinamento, além de aumentar a capacidade funcional, produziu diversas adaptações na função e regulação cardiovascular dos indivíduos com DAP e CI, reduzindo a PAS, a FC e o balanço simpatovagal cardíaco (CHEHUEN et al., 2017). Porém, esse estudo anterior não investigou os mecanismos associados às alterações cardiovasculares observadas, como a inflamação, o estresse oxidativo e a biodisponibilidade de NO.

Considerando-se os conhecimentos prévios sobre os efeitos do TC sobre marcadores inflamatórios, de estresse oxidativo e o NO em indivíduos com DAP e CI, os resultados relatados na literatura ainda permanecem inconclusivos. Alguns estudos relataram redução da inflamação sistêmica após o TC (SAETRE et al., 2011; NOWAK et al., 2012; JANUSZEK et al., 2014). Em contrapartida, Schlager et al. (2012), Delaney e Spark (2015) e Mika et al. (2013) observaram que o treinamento não promoveu nenhum efeito anti-inflamatório nesses indivíduos. Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, as informações são bastante escassas. Um estudo (TURTON et al., 2002) avaliou os níveis sanguíneos da peroxidação lipídica de indivíduos com CI antes e após um treinamento em esteira ergométrica e não observou modificações, mas Nowak et al. (2012) mostraram que um gene antioxidante (*HMOX2*) tendeu a aumentar após o TC. Já em relação a biodisponibilidade de NO, um estudo (AROSIO et al., 1999) que avaliou indivíduos com CI após treinamento, evidenciou melhora da produção de NO e, confirmando esses resultados, Allen et al. (2010) demonstraram aumento do nitrito plasmático após 12 semanas de treinamento de caminhada. Em contrapartida, Delaney et al. (2015) observaram que o treinamento de caminhada não modificou essa variável após o mesmo período de treinamento. É possível que a controvérsia entre os estudos esteja associada ao protocolo de TC utilizado. Dessa forma, seria interessante avaliar os efeitos do protocolo proposto em nosso estudo anterior (CHEHUEN et al., 2017) sobre a inflamação, o estresse oxidativo e a biodisponibilidade de NO, uma vez que esse protocolo já demonstrou efeitos cardiovasculares positivos. Além disso, é importante ressaltar que todos os estudos da literatura avaliaram a resposta dos marcadores desses processos apenas no sangue, refletindo o efeito sistêmico do TC, quando o aparecimento e desenvolvimento desses marcadores ocorre, principalmente, na musculatura afetada pela doença. Dessa forma, seria importante investigar também o efeito do TC nesses marcadores no local da lesão, fazendo medidas musculares além das sanguíneas, o que pelo nosso conhecimento ainda não foi realizado.

Apesar dos possíveis benefícios crônicos do TC em indivíduos com CI, é importante destacar que a prescrição de treinamento de caminhada para esses indivíduos envolve, principalmente, a realização de sessões de exercício até a dor máxima de claudicação (GERHARD-HERMAN et al., 2017), levando a alterações fisiológicas importantes durante e após a realização do exercício. Assim, em indivíduos com CI, durante a caminhada, a PA e a FC se elevam progressivamente, causando um aumento expressivo da sobrecarga cardiovascular, que é maior que o observado em indivíduos saudáveis (LORENTSEN, 1972; BAKKE et al., 2007). Somando-se a isso, a resposta hipotensora pós-exercício não se mantém durante as atividades cotidianas nesses indivíduos (RODRIGUES et al., 2014). Os mecanismos

responsáveis por essas respostas não são completamente entendidos, mas tem sido sugerido que os períodos de isquemia do membro afetado durante o esforço, seguidos por períodos de reperfusão durante os intervalos, levam a uma resposta inflamatória local, que se propaga sistemicamente (SIGNORELLI et al., 2003; PALMER-KAZEN; RELIGA; WAHLBERG, 2009), além de promover aumento do estresse oxidativo (SILVESTRO et al., 2002; TURTON et al., 2002). O impacto agudo dessas alterações tem sido debatido. Alguns autores sugerem que o aumento de inflamação e estresse oxidativo após a sessão de exercício de caminhada aumenta o risco cardiovascular desses indivíduos (TURTON et al., 1998; SILVESTRO et al., 2002; SIGNORELLI et al., 2003), enquanto outros sugerem que essas respostas observadas nas primeiras horas após o exercício podem ser um gatilho para as adaptações ao treinamento (HECKSTEDEN; GRUTTERS; MEYER, 2013; TIBANA et al., 2015). Dessa forma, embora cronicamente o TC traga benefícios expressivos a esses indivíduos, a execução de cada sessão de caminhada até a dor máxima de claudicação representa um estresse fisiológico importante, que precisa ser melhor entendido.

Algumas evidências sugerem que o TC também modifica as respostas fisiológicas agudas ao exercício nos indivíduos com DAP e CI. Nesse sentido, alguns autores têm demonstrado que o TC reduz a resposta inflamatória sistêmica provocada por um esforço máximo em indivíduos com CI (TURTON et al., 2002; DELANEY; SPARK, 2015). Em contrapartida, outra investigação (NOWAK et al., 2012) demonstrou que o treinamento diminuiu alguns genes de expressão antioxidante e aumentou a produção de algumas citocinas pró-inflamatórias após o teste máximo. Além disso, a respostas de outras variáveis fisiológicas, como a resposta autonômica e a função cardiovascular após uma sessão de caminhada ainda não foram investigadas. Apesar do possível efeito crônico do TC reduzindo as respostas agudas ao esforço máximo, os estudos sobre o tema ainda são em pequeno número, apresentam análises limitadas e resultados controversos, de modo que são necessárias mais investigações. Além disso, os poucos estudos existentes investigaram, exclusivamente, marcadores sistêmicos, sendo importante também avaliar as respostas no local afetado pela doença.

Em síntese, a prática regular de caminhada pode ser benéfica para indivíduos com DAP e CI, não apenas na melhora da capacidade de caminhada, mas também para a diminuição dos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, para a melhora da biodisponibilidade de NO e para a melhora da modulação autonômica e da função cardiovascular. Além disso, o treinamento pode modificar as respostas agudas desses processos a cada sessão de esforço físico máximo. No entanto, apesar das evidências científicas nesse sentido, os estudos ainda são escassos e os resultados conflitantes. Outro aspecto relevante é que a maioria dos estudos

investigou os marcadores desses processos no plasma sanguíneo, quando a origem desses marcadores é a musculatura ativa, sendo importante avaliar essas respostas também na musculatura afetada pela doença, o que pode levar a uma compreensão mais abrangente dos efeitos da caminhada no risco cardiovascular desses indivíduos.

2. OBJETIVOS

2.1.Geral

Verificar, em indivíduos com DAP e sintomas de CI, o efeito de um período de TC sobre a função e regulação cardiovasculares, bem como sobre marcadores locais e sistêmicos de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação, avaliados em repouso e após uma caminhada até a dor máxima de claudicação.

2.2.Específicos

Considerando as variáveis marcadoras de:

- a) Função cardiovascular: FC, PA, duplo produto (DP);
- b) Regulação autonômica cardiovascular: variabilidade da FC (VFC), variabilidade da PA (VPA) e sensibilidade barorreflexa (SBR);
- c) Função endotelial: NO sistêmico e óxido nítrico sintase (eNOS) local;
- d) Estresse oxidativo sistêmico e local: catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e peroxidação lipídica (LPO); e
- e) Inflamação sistêmica e local: interleucina-6 (IL-6), proteína C-reativa (PCr), fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), moléculas de adesão intercelular (ICAM) e moléculas de adesão vascular (VCAM).

Verificar, em indivíduos com DAP e CI:

- 1) As respostas agudas dessas variáveis após uma caminhada máxima;
- 2) O efeito do TC nessas variáveis avaliadas
 - 2a) em repouso;
 - 2b) após uma caminhada até a dor máxima, investigando o efeito sobre:
 - 2b1) a resposta ao exercício (diferença pós-pré exercício)
 - 2b2) os valores absolutos pós-exercício.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Doença arterial periférica e claudicação intermitente

A DAP é uma doença caracterizada pela presença de lesão obstrutiva nas artérias periféricas do corpo (GARCIA, 2006). Essa lesão tem, normalmente, origem aterosclerótica e se localiza, preferencialmente, nos membros inferiores. Como consequências da obstrução, há redução da luz do vaso e do fluxo sanguíneo para as regiões distais à obstrução (GARDNER; MONTGOMERY, 2008), o que leva à diminuição da capacidade de caminhada (KATZEL et al., 2001).

A prevalência da DAP varia entre 3 e 10% na população mundial adulta e aumenta para 20% em indivíduos com mais de 70 anos. No Brasil, essa prevalência é de cerca de 10,5%, tendendo a aumentar com a idade (10,1% até 45 anos, 11,8% entre 45 e 59 anos e 16,0% com ≥ 60 anos) (MAKDISSE et al., 2008). Os principais fatores de risco para o aparecimento da doença são sedentarismo, diabetes, hipertensão e, especialmente, o tabagismo (MAKDISSE et al., 2008).

A DAP é classificada em quatro estágios, segundo os critérios de Fontaine; Kim e Kieny (1954). No primeiro estágio, a obstrução arterial ainda é assintomática. O segundo estágio é marcado pelo aparecimento de sintomas, sendo o mais evidente a CI, que se caracteriza por dor, ardência, câimbra, formigamento e outras sensações na musculatura da perna durante a prática de atividade física e que são aliviadas com o repouso (MEIJER et al., 1998). No terceiro estágio, o indivíduo já sente o sintoma de dor mesmo estando em repouso e, no quarto estágio, além da dor em repouso, ocorrem também ulcerações isquêmicas nos membros inferiores e gangrena (GARCIA, 2006).

A CI, correspondente ao segundo estágio, ocorre em 45% dos indivíduos com DAP (WEITZ et al., 1996; HIRSCH et al., 2006). A presença desse sintoma provoca dificuldades na realização de exercícios físicos, causando redução na capacidade de caminhada e, como consequência, diminuição na capacidade funcional (NORGREN et al., 2007). Assim, indivíduos com CI apresentam menor consumo de oxigênio pico (VO_2 pico) (BARKER et al., 2004) e menor força muscular da perna quando comparados a indivíduos saudáveis de mesma idade (KUO; YU, 2008; MCDERMOTT; TIAN; FERRUCCI; et al., 2008). Além disso, quando comparados a indivíduos sem a doença, homens e mulheres com DAP têm atrofia e redução do número de fibras musculares (REGENSTEINER et al., 1993), além de menor capacidade oxidativa na musculatura esquelética do membro afetado (PIPINOS et al., 2006; PIPINOS et

al., 2007). Adicionalmente, distúrbios do metabolismo também podem contribuir para a diminuição da capacidade de caminhada nos indivíduos com CI (BREVETTI et al., 1992; BREVETTI et al., 1996; HIATT et al., 1996). Nesse sentido, esses indivíduos apresentam retardo na redução da saturação de hemoglobina nos músculos (BAUER; BRASS; HIATT, 2004), o que provavelmente reflete um retardo no desempenho oxidativo, resultante de uma disfunção mitocondrial. De fato, quando o músculo esquelético de indivíduos com CI foi avaliado, houve comprometimento na recuperação da fosfocreatina e da adenosina difosfato após um exercício físico (PIPINOS et al., 2000; ISBELL et al., 2006). Além disso, os complexos I, III e IV da cadeia transportadora de elétrons da respiração mitocondrial encontraram-se reduzidos (17%, 30% e 17%, respectivamente) em indivíduos com CI e a atividade das enzimas oxidativas desses complexos também estavam diminuídas (22%, 15%, e 32%, respectivamente) (PIPINOS et al., 2006). Adicionalmente, indivíduos com CI apresentam acúmulo de acilcarnitina, sugerindo prejuízo na oxidação completa de ácidos graxos, o que também prejudica o suprimento energético (BREVETTI et al., 1996).

A presença de disfunção mitocondrial em indivíduos com CI pode ainda comprometer a bioenergética celular e gerar aumento de espécies reativas de oxigênio, que são deletérias para os componentes e função do músculo esquelético (BARREIRO, 2013). Os principais locais para a geração de espécies reativas de oxigênio são os complexos I e III da cadeia transportadora de elétrons (ST-PIERRE et al., 2002) e danos na mitocôndria, especialmente nesses complexos, aumentam a produção das espécies reativas (KWONG; SOHAL, 1998; PIPINOS et al., 2006). Um estudo anterior que avaliou o músculo de indivíduos com CI demonstrou aumento consistente nos produtos da peroxidação lipídica e oxidação proteica, marcadores de estresse oxidativo, devido a defeitos em ambos os complexos (PIPINOS et al., 2006). Além disso, o estresse oxidativo associado à CI pode prejudicar o DNA mitocondrial. Um estudo que avaliou oito indivíduos com CI unilateral e 10 controles, observou que o músculo da perna afetada teve um aumento de 17 vezes na frequência de um gene de deleção para o DNA em comparação ao músculo dos indivíduos controle (BHAT et al., 1999). A exposição mitocondrial aos radicais livres pode levar também a um prejuízo da capacidade oxidativa desses indivíduos (YU; MERCER; BENNETT, 2012; GUILLOT et al., 2013). Todas essas alterações podem se associar à redução da capacidade de caminhada e essa redução de capacidade funcional se associa a uma piora da qualidade de vida, de modo que indivíduos com CI apresentam índices mais baixos que sujeitos sem a doença em diversos domínios da qualidade de vida (HICKEN; LOSSING; AMELI F, 2000).

Além da redução da capacidade funcional e da qualidade de vida, a DAP pode ter prognósticos indesejados. Cerca de 25% dos indivíduos têm sintomas progressivos da doença, piorando sua capacidade funcional e necessitando de intervenção no primeiro ano após o diagnóstico (MCDERMOTT et al., 2004). Além disso, após 5 anos do diagnóstico, 1 a 2% deles pode chegar ao estágio IV da doença, com uma obstrução crítica que leve à necessidade de amputação do membro afetado (WEITZ et al., 1996). Outra linha de progressão prognóstica da DAP diz respeito aos eventos cardiovasculares. Após 5 anos do diagnóstico, cerca de 20% dos indivíduos apresentam um evento cardiovascular e 15–30% deles morrem nesse período, sendo que 75% dessas mortes têm origem cardiovascular (WEITZ et al., 1996). Assim, estima-se que a DAP está associada a um aumento do risco de morte cardiovascular de 4 a 6% ao ano em comparação aos indivíduos controle (BAINTON et al., 1994; LENG et al., 1996). Além disso, indivíduos com a CI têm mortalidade 3,5 vezes maior que indivíduos com DAP assintomática (DORMANDY; HEECK; VIG, 1999).

Diversas formas de tratamento são indicadas aos indivíduos com DAP, incluindo medidas clínicas e cirúrgicas. O tratamento clínico do indivíduo com DAP e CI envolve o controle dos fatores de risco da doença através de medidas medicamentosas e de modificações dos hábitos de vida (HIRSCH et al., 2006; NORGRAN et al., 2007). Nesse sentido, a execução regular de exercícios físicos, principalmente a caminhada, tem sido especialmente recomendada para esta população (HIRSCH et al., 2006) devido aos comprovados benefícios dessa prática, que aumenta a capacidade funcional (GARDNER; POEHLMAN, 1995; BRANDSMA et al., 1998) e melhora a qualidade de vida (GARDNER et al., 2004; MCDERMOTT et al., 2009) desses indivíduos.

Dessa forma, a DAP consiste numa doença com prevalência importante em adultos e idosos, que piora a qualidade de vida dos indivíduos e tem prognóstico indesejado. A prática regular de exercícios físicos, especialmente a caminhada, é o tratamento inicial desses indivíduos, principalmente naqueles que apresentam CI e, portanto, limitações na capacidade funcional e aumento do risco cardiovascular.

3.2. Doença arterial periférica: envolvimento da inflamação, disfunção endotelial, estresse oxidativo, regulação autonômica e alterações cardiovasculares.

Apesar de outros fatores poderem causar obstrução das artérias periféricas, a principal causa da DAP é a aterosclerose. A aterosclerose é uma doença que se caracteriza pela formação de placas de ateroma, que se projetam para a luz arterial, provocando obstrução à passagem do

sangue (MUNGER; HAWKINS, 2004). Ela é considerada uma doença crônica inflamatória da parede arterial e está associada ao mau funcionamento do metabolismo lipoproteico e da resposta imune (STEINBERG, 1997; MILLER et al., 2003). O processo inicial do desenvolvimento da DAP se caracteriza pela presença de um ou mais fatores de risco cardiovascular (hipertensão, dislipidemia, tabagismo, diabetes). Esses fatores causam uma série de micro lesões na parede das artérias, facilitando a penetração das LDL (figura 1).

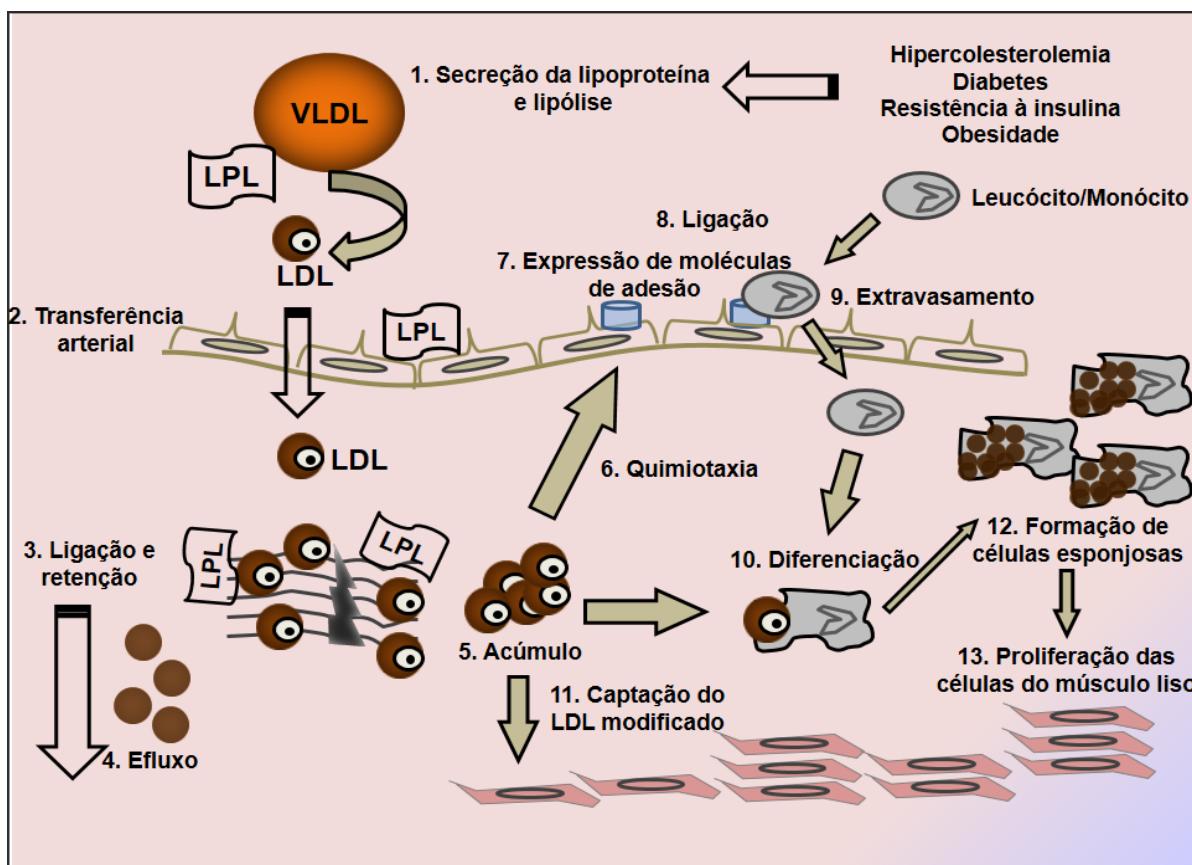


Figura 1. Evolução do processo aterosclerótico. VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; LPL – Lipólise. Eventos envolvidos na oxidação do LDL e formação da placa aterosclerótica. A figura apresenta a transformação da VLDL em LDL por lipólise, entrada e acúmulo de LDL na íntima do vaso (1-5); em seguida, o início da cascata pró-inflamatória, entrada dos macrófagos e sua associação com o LDL, formação das células espumosas e proliferação das células do músculo liso (6-13). Fonte: Adaptado de Stocker e Keaney (2004).

As partículas de LDL atravessam o endotélio e chegam à camada íntima da parede, onde podem ser oxidadas (STEINBERG, 1997). A oxidação das LDL estimula uma intensa resposta imune, mediada pela secreção de imunoglobulina G e ação de anticorpos, o que resulta no acúmulo de células espumosas derivadas dos macrófagos. Esses macrófagos secretam ainda citocinas inflamatórias, tais como a IL-6, que aumentam a síntese de PCr e, consequentemente,

atenuam a produção de NO, inibindo a angiogênese e modulando a progressão da lesão aterosclerótica (VERMA et al., 2002). Somado a isso, o endotélio lesado expressa em sua superfície moléculas de adesão celular (ICAM e VCAM). Esse processo inflamatório estimula a proliferação da camada muscular do vaso, agravando a lesão aterosclerótica (BREVETTI; SCHIANO; CHIARIELLO, 2006). Assim, os mediadores inflamatórios têm um papel importante no processo aterosclerótico em sua fase inicial, durante sua evolução e também na eventual ruptura da placa já estabelecida (ROSS, 1999).

Dessa forma, pode-se dizer que indivíduos com DAP apresentam um estado pró-inflamatório. Nesse sentido, um estudo que investigou os marcadores inflamatórios em indivíduos com DAP observou que a IL-6 e o TNF-alfa estão aumentados nesses indivíduos em comparação a indivíduos controle, e que o grau de ativação dessas citocinas está relacionado à gravidade da doença (DANIELSSON et al., 2005). Corroborando com esses resultados, outro estudo que avaliou 93 indivíduos com DAP e 38 saudáveis observou concentrações plasmáticas de endotelina e PCr significantemente maiores nos indivíduos com DAP (DE HARO MIRALLES et al., 2010) e outro estudo que avaliou 4787 homens e mulheres acima de 40 anos com DAP observou que altos níveis de PCr, fibrinogênio e contagem de leucócitos foram associados à maior gravidade da doença (WILDMAN et al., 2005).

A agressão vascular provocada pelo processo fisiopatológico da aterosclerose e a resposta inflamatória que acompanha essa lesão afetam a função vascular, reduzindo a biodisponibilidade de NO e, consequentemente, a capacidade vasodilatadora (BLAKE; RIDKER, 2001; RIDKER, 2001), além de estimular a liberação da endotelina e, consequentemente, aumentar a resposta vasoconstritora (HAYNES; WEBB, 1998). Portanto, o quadro aterosclerótico da DAP também é acompanhado por disfunção endotelial (ROSS, 1999). Nesse sentido, um estudo que avaliou a vasodilatação mediada na artéria braquial relatou menor resposta vasodilatadora nos indivíduos com DAP, sintomáticos ou não, em comparação aos controles, sendo que a vasodilatação foi ainda menor nos indivíduos com o sintoma de CI, sugerindo que o prejuízo da função endotelial também se relaciona à severidade do prejuízo circulatório (SILVESTRO et al., 2003). Corroborando com esses resultados, Gokce et al. (2003) avaliaram a função endotelial da artéria braquial em 199 indivíduos com DAP e observaram que a resposta da vasodilatação mediada foi menor em indivíduos que já tinham tido algum evento cardiovascular (infarto do miocárdio, angina instável, acidente vascular cerebral) em comparação àqueles que não tinham histórico de eventos.

A coexistência de um estado pró-inflamatório com disfunção endotelial tem sido observada em diferentes populações com doenças cardiovasculares, como doença coronariana

(ROSS, 1999; YAYAN, 2013) e insuficiência cardíaca (ANATOLIOTAKIS et al., 2013). Nesse sentido, um estudo avaliou na DAP a relação entre marcadores de inflamação e disfunção endotelial e observou que os indivíduos com menor vasodilatação fluxo mediada tiveram níveis sanguíneos de PCr e fibrinogênio aumentados em comparação aos que tiveram maior vasodilatação (DE HARO et al., 2008). Corroborando esses resultados, Silvestro et al. (2003) compararam sujeitos controle, DAP assintomáticos e DAP com CI e identificaram que os indivíduos com maior média de PCr e IL-6 tiveram menor vasodilatação fluxo mediada.

Além do processo inflamatório e da disfunção endotelial, os indivíduos com DAP e CI sofrem episódios repetidos de isquemia e reperfusão muscular em função da obstrução do fluxo causada pela placa aterosclerótica, o que pode se associar a um aumento do estresse oxidativo celular (TURRENS et al., 1991; KHAIRA et al., 1995). Além disso, o próprio desenvolvimento da aterosclerose gera aumento do estresse oxidativo (KANG; KANG, 2013). Em consequência, o aumento da produção de radicais livres pode prejudicar a função mitocondrial (AMES; SHIGENAGA; HAGEN, 1993), levando a anormalidades na cadeia transportadora de elétrons, que elevam o gradiente eletroquímico, resultando em aumento ainda maior desses radicais (KWONG; SOHAL, 1998; PIPINOS et al., 2006). Dessa forma, os indivíduos com DAP apresentam também aumento do estresse oxidativo. De fato, um estudo observou que o malondialdeído, que é um marcador de peroxidação lipídica em resposta à geração de radicais livres, está elevado na DAP (BELCH et al., 1995).

Além das alterações metabólicas, inflamatórias, de estresse oxidativo e da disfunção endotelial, a disfunção autonômica também já foi evidenciada da DAP. Nesse sentido, os indivíduos com DAP apresentam redução da modulação parassimpática cardíaca e aumento das modulações simpáticas cardíaca e vasomotora (GOERNIG et al., 2008). Essas alterações autonômicas estão presentes em diferentes doenças cardiovasculares e se associam a alta taxa de morbidade e mortalidade cardiovascular (GREISER et al., 2009; LAUER, 2009). Além disso, em diversas doenças, as alterações autonômicas se associam às alterações inflamatórias (VON KANEL et al., 2011), endoteliais (TRUCCOLO et al., 2013) e de estresse oxidativo (THIYAGARAJAN et al., 2012), o que também deve ocorrer na DAP.

As modificações autonômicas podem culminar em modificações cardiovasculares nos indivíduos com DAP, como o aumento da PA e da sobrecarga cardíaca (WEITZ et al., 1996; MCDERMOTT; TIAN; LIU; et al., 2008). Nesse sentido, estudos epidemiológicos (SELVIN; ERLINGER, 2004; CARBAYO et al., 2007) demonstraram que mais de 91% dos indivíduos com DAP possuem um ou mais fatores de risco cardiovascular modificáveis, sendo a hipertensão um dos mais prevalentes. O estudo REACH (BHATT et al., 2006), por exemplo,

realizado em 44 países, com indivíduos com idade ≥ 45 anos, demonstrou que dos 8273 indivíduos com DAP investigados, 81% tinham hipertensão arterial. Além desse, outro estudo (TONKIN; CHEN, 2009), que acompanhou 461 indivíduos com DAP por 5,5 anos, demonstrou que a prevalência de hipertensão arterial aumentou expressivamente ao longo do tempo de observação.

Analizando-se em conjunto as informações anteriores, é possível dizer que a inflamação, o estresse oxidativo, a disfunção endotelial, a disautonomia e o aumento da sobrecarga cardiovascular são processos inerentes ao desenvolvimento na DAP, principalmente nos indivíduos com CI, e, portanto, podem elevar o risco de mortalidade e eventos cardiovasculares nessa população.

3.3. Morbimortalidade cardiovascular na doença arterial periférica: envolvimento da inflamação, disfunção endotelial, estresse oxidativo, regulação autonômica e alterações cardiovasculares.

Como apontado anteriormente, todos os marcadores de inflamação, estresse oxidativo, função endotelial e função cardiovascular estão alterados nos indivíduos com DAP e CI. Essas modificações, ao longo da evolução da doença, pioram o prognóstico cardiovascular desses indivíduos, aumentando a chance de mortalidade ou de algum evento cardiovascular.

Nesse sentido, por exemplo, o VCAM, o ICAM e a PCr, que são importantes marcadores de inflamação, desenvolvem um papel relevante na evolução da aterosclerose e podem ser considerados preditores independentes para eventos cardiovasculares na população com DAP. Silvestro et al. (2005) observaram que entre 75 indivíduos com DAP que foram monitorados durante 24 meses, aqueles que estavam com o VCAM acima da mediana tiveram um aumento de 3,4 vezes no risco de algum evento cardiovascular. Corroborando esses resultados, outro estudo (BLANN et al., 1998) mostrou, após 39 meses de acompanhamento de 112 indivíduos com DAP, que o aumento no ICAM predisse em quais indivíduos a doença progrediu com um desfecho como infarto do miocárdio ou cirurgia arterial. Outro estudo (BECKMAN et al., 2005) observou 60 indivíduos ao longo de 24 meses e aqueles com maiores níveis de PCr desenvolveram algum evento cardiovascular (infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico ou revascularização). Interessantemente, nesse estudo, o risco foi seis vezes maior no grupo com maior concentração de PCr comparado ao grupo com menor, para todos esses eventos cardiovasculares.

Além do aumento de morbidade cardiovascular, estudos têm mostrado que alguns marcadores inflamatórios estão relacionados também com o aumento da taxa de mortalidade cardiovascular ou por todas as causas em indivíduos com DAP. Depalma et al. (2010) observaram que a média dos níveis de IL-6 após um período de acompanhamento de seis anos foi maior nos indivíduos que morreram por qualquer causa comparados aos sobreviventes. Corroborando esses resultados, Barani et al. (2005) avaliaram 259 indivíduos, sendo que durante o primeiro ano, 61 deles morreram por causas cardiovasculares. Esses indivíduos tinham maiores níveis de IL-6, TNF-alfa e PCr em comparação aos sobreviventes. Portanto, esses dados sugerem a existência de relação entre inflamação e mortalidade em indivíduos com DAP.

Marcadores de estresse oxidativo também são identificados como preditores de futuros eventos cardiovasculares em indivíduos com DAP. Diferentes publicações sugerem que o aumento do estresse oxidativo, avaliado pela dimetilarginina assimétrica, tem valor preditivo para eventos cardíacos em indivíduos com DAP (MITTERMAYER et al., 2006; WILSON et al., 2010). Nesse sentido, também a dimetilarginina assimétrica, que é um modulador natural de estresse oxidativo (SIBAL et al., 2010) é um preditor independente da ocorrência de eventos cardiovasculares em indivíduos com DAP.

Entre os fatores que tem relação com o risco cardiovascular de indivíduos com DAP, está o metabolismo do NO. Nesse sentido, concentrações séricas de L-arginina e L-homoarginina foram avaliadas em 232 indivíduos do sexo masculino diagnosticados com CI e 246 controles pareados com idade e diabetes (VOGL et al., 2015). Após a investigação inicial, os indivíduos foram seguidos prospectivamente (mediana de 7 anos) e a associação desses marcadores na linha de base com eventos cardiovasculares e mortalidade foi avaliada. Como conclusão, o estudo mostrou que a L-arginina foi associada a eventos cardiovasculares, provavelmente devido ao seu papel primário no metabolismo do NO e impacto na integridade endotelial. Enquanto que a L-homoarginina esteve relacionada à mortalidade por todas as causas, o que implica em um papel mais amplo nos processos metabólicos além da função endotelial. Além disso, o metabolismo do NO influencia diretamente no fluxo sanguíneo basal e em resposta à manobra de hiperemia reativa, o que também leva a um aumento do risco cardiovascular em indivíduos com CI. Assim, é interessante perceber que a redução da resposta vasodilatadora do membro inferior afetado pela doença diminui a expectativa de vida dos indivíduos com a doença (OGREN et al., 2003). Corroborando esses resultados, Huang et al. (2007) acompanharam 267 indivíduos durante 24 meses e observaram que 50 deles (19%) tiveram algum evento cardiovascular, incluindo morte, infarto do miocárdio, angina instável e

acidente vascular encefálico. Esses autores observaram que os indivíduos com algum evento tiveram pior resposta à manobra de hiperemia, que foi preditora desses eventos cardiovasculares.

Além desses marcadores, a hipertensão arterial afeta mais de 80% dos indivíduos com DAP, o que explica, parcialmente, a elevada taxa de mortalidade observada (WEITZ et al., 1996). De fato, Jelnes et al. (1986) observaram 257 indivíduos durante seis anos e tiveram 113 (44%) mortes, sendo que o risco de mortalidade cardiovascular aumentou 32% para cada aumento de 10 mmHg na PA. Assim, esses achados mostram a importância do controle da PA no tratamento dos indivíduos com CI.

Dessa forma, fica clara a relação da aterosclerose, disfunção endotelial, inflamação, estresse oxidativo e disfunção cardiovascular com o aumento de eventos e mortalidade cardiovasculares em indivíduos com DAP. Assim, as diferentes formas de tratamento, recomendadas para esses indivíduos, devem visar também o controle dos fatores supracitados para a redução da morbimortalidade cardiovascular.

3.4. Tratamento dos indivíduos com doença arterial periférica

De acordo com o posicionamento das sociedades relacionadas às doenças vasculares, como a American Association for Vascular Surgery, Society for Vascular Surgery, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007), o tratamento inicial e preferencial dos indivíduos com a DAP e com sintomas de CI deve ser clínico. Esse tratamento caracteriza-se pela prescrição do TC associado a condutas medicamentosas ou não medicamentosas para o controle e prevenção dos fatores de risco. No entanto, se não houver a melhora esperada, a medicação específica para o membro afetado deve ser introduzida e, se necessário, o tratamento cirúrgico deve ser realizado (ERNST; FIALKA, 1993; HIRSCH et al., 2006). Destaca-se, no entanto, que mesmo quando essas condutas são necessárias, o TC continua sendo essencial (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007). De fato, Tan; De Cossart e Edwards (2000) apontam que a recomendação original de um programa de exercício físico como método de tratamento para indivíduos com DAP e CI foi realizada em 1898. Em 1957, essa recomendação foi reintroduzida e, em 1988, summarizada com a seguinte frase: “Pare de fumar e continue caminhando”. Diante da importância da caminhada nessa população, torna-se necessário discutir os possíveis efeitos desse tipo de tratamento na capacidade de caminhada e risco cardiovascular dos indivíduos com DAP e CI.

3.5. Treinamento de caminhada: Efeito na capacidade de caminhada

Diferentes meta-análises revelaram aumentos de até 179% na distância de claudicação (DIC) e 210% na distância total de caminhada (DTC) em indivíduos com DAP e CI após um período de TC (GARDNER; POEHLMAN, 1995; BRANDSMA et al., 1998). Além disso, cabe ressaltar que 12 semanas de TC já são suficientes para aumentar,显著mente, a DIC e a DTC nesses indivíduos. Inclusive em nosso laboratório, três estudos anteriores (RITTI-DIAS et al., 2010; CUCATO et al., 2013; CHEHUEN et al., 2017) demonstraram que 12 semanas de TC melhoraram em, respectivamente, 37–34%, 26–40% e 36–47%, as DICs e DTCs desses indivíduos. Além disso, outros estudos mostram melhora da economia de caminhada (GARDNER et al., 2001; GARDNER et al., 2002; GARDNER et al., 2004), ou seja, diminuição do VO_2 para uma determinada intensidade absoluta de esforço com o TC.

Uma das possíveis explicações para a melhora da capacidade de caminhada com o TC está relacionada ao aumento na densidade capilar promovida por esse treinamento, apesar dos estudos nesse sentido serem conflitantes. Um estudo, que submeteu 35 indivíduos com CI à biopsia do músculo gastrocnêmio antes e após 12 semanas de treinamento, relatou aumento da capacidade de caminhada e densidade capilar nos indivíduos com CI (DUSCHA et al., 2011). Em contrapartida, outro estudo identificou que seis semanas de treinamento em esteira não foram suficientes para alterar o fator de crescimento endotelial (VEGF), relacionado à angiogênese, apesar dos autores terem observado aumento no tempo máximo de caminhada após o período de intervenção (WOOD et al., 2006).

Outra perspectiva para a melhora da deambulação desses indivíduos está ligada ao aumento das enzimas oxidativas. Hou et al. (2002) demonstraram que sujeitos com CI, treinados com caminhada, apresentavam capacidade mitocondrial (atividade da enzima citrato sintase e piruvato desidrogenase) similar a sedentários saudáveis e maior que seus congêneres portadores da doença sedentários. No entanto, quando Duscha et al. (2011) treinaram em esteira ergométrica um grupo de 35 indivíduos com CI e realizaram biópsia do músculo gastrocnêmio houve manutenção da atividade da enzima citrato sintase após 12 semanas de treinamento, apesar da melhora da capacidade de caminhada. Por outro lado, mais recentemente, Van Schaardenburgh et al. (2017) observaram que 8 semanas de treinamento de caminhada foram suficientes para aumentar a atividade da enzima citrato sintase, além de melhorar a capacidade de caminhada de indivíduos com CI.

Embora o aumento da capacidade de caminhada seja de extrema importância para esses indivíduos, a prática regular de exercício físico também pode promover outros efeitos,

como o aprimoramento da função vascular, melhora da regulação autonômica cardiovascular e dos indicadores de inflamação e estresse oxidativo, essenciais para a redução do risco de eventos cardiovasculares e mortalidade em indivíduos com DAP e CI.

3.6.Treinamento de caminhada: Efeito no risco cardiovascular

3.6.1. Treinamento de caminhada, função cardiovascular e regulação autonômica cardiovascular

Considerando-se a função cardiovascular, embora o efeito hipotensor do treinamento aeróbico já esteja bem definido na população hipertensa sem CI (FAGARD; CORNELISSEN, 2007), esse efeito em indivíduos com CI é controverso. Alguns estudos (IZQUIERDO-PORRERA et al., 2000; GRIZZO CUCATO et al., 2011; CHEHUEN et al., 2017) demonstraram que o TC reduz os níveis da PAS de repouso nesses indivíduos, enquanto que Roberts et al. (2008), Brendle et al. (2001) e Ng et al. (2005) não observaram modificações significantes dessa variável. Além disso, apenas um estudo demonstrou diminuição significante da pressão arterial diastólica (PAD) (MANFREDINI et al., 2008) após um período de treinamento. Em relação à FC de repouso, enquanto Roberts et al. (2008), Grizzo Cucato et al. (2011) e Chehuen et al. (2017) demonstraram diminuição, Ng et al. (2005) não observaram modificações.

O TC pode promover importantes mudanças no balanço autonômico cardiovascular em diversas populações (TASK FORCE, 1996), reduzindo a modulação simpática e aumentando a modulação parassimpática cardíaca. Esse efeito foi observado em cardiopatas com doença arterial coronariana, infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca (MALFATTO et al., 1996; LUCINI et al., 2002; TSAI et al., 2006). Além disso, em indivíduos idosos saudáveis, o TC também promoveu diminuição da modulação simpática cardíaca (SCHUIT et al., 1999) e, em hipertensos, normalizou os valores dessa modulação (IZDEBSKA et al., 2004). Já em indivíduos com CI, um estudo (CHEHUEN et al., 2017) demonstrou redução da modulação simpática cardíaca em paralelo ao aumento da modulação parassimpática, com consequente melhoria do balanço autonômico cardíaco após um período de TC. Enquanto que Sandercock et al. (2007) e Leicht; Crowther e Golledge (2011) não observaram efeito do TC sobre a modulação autonômica cardíaca desses indivíduos.

Considerando que as controvérsias ou ausência de efeito do TC sobre as adaptações cardiovasculares em indivíduos com DAP e CI poderiam se dever às diferenças ou inadequação

nos protocolos de treinamento aplicados nos estudos, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um protocolo de TC para indivíduos com CI constituído por 15 séries de 2 minutos de caminhada em esteira em intensidade equivalente à FC do limiar de dor e intercaladas por intervalos de 2 min de pausa passiva. Esse protocolo demonstrou promover estímulo cardiovascular acima de 80% da FC pico, estímulo metabólico acima do limiar anaeróbico e dor durante sua execução (CUCATO et al., 2013), podendo ser um estímulo adequado para se obter das adaptações cardiovasculares desejadas. De fato, num estudo anterior (CHEHUEEN et al., 2017), demonstramos que esse protocolo foi efetivo em reduzir a PA e a FC de repouso, diminuir a variabilidade da PA ambulatorial, reduzir a modulação simpática e aumentar a parassimpática cardíacas, melhorar a SBR e aumentar o fluxo sanguíneo e a capacidade vasodilatadora do antebraço, sem modificar esses parâmetros na perna afetada pela doença. Dessa forma, este protocolo de TC se mostrou eficiente em promover grande parte das adaptações cardiovasculares desejadas e ainda levantou a questão de que as adaptações sistêmicas e locais ao TC podem ser diferentes em indivíduos com CI, tendo em vista as respostas diferentes observadas no antebraço e na perna afetada.

Assim, existem evidências de efeitos benéficos do TC na função e regulação cardiovasculares, o que pode ajudar a reduzir a sobrecarga cardiovascular nesses indivíduos. Porém, existem outros processos associados ao aumento da morbimortalidade cardiovascular nos indivíduos com DAP e CI, como a disfunção endotelial, a inflamação e o estresse oxidativo, cuja influência do TC ainda precisa ser melhor estudada.

3.6.2. Treinamento de caminhada, função endotelial, inflamação e estresse oxidativo

Como apresentado anteriormente, a relação do aumento de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo com o aumento de eventos cardiovasculares e mortalidade em indivíduos com DAP já está clara na literatura. Entretanto, os efeitos do TC nesses marcadores ainda permanecem inconclusivos. Alguns estudos reportaram efeitos do TC diminuindo a inflamação. Um estudo (SAETRE et al., 2011) avaliou a resposta inflamatória sistêmica de indivíduos com CI após oito semanas de TC e relatou redução de alguns marcadores de adesão molecular, como ICAM e VCAM. Turton et al. (2002) observaram que após 12 semanas de TC ocorreu redução da ativação de neutrófilos. Tisi et al. (1997), Januszek et al. (2014), Dopheide et al. (2015) e Gardner et al. (2014) identificaram que 12 semanas de TC foram suficientes para reduzir a PCr nos indivíduos com CI. Adicionalmente, Nowak et al. (2012) observaram redução da IL-6 e TNF-alfa após o mesmo período de treinamento em 12 indivíduos. Em contrapartida, outros

estudos de Schlager et al. (2012), Delaney e Spark (2015) e Mika et al. (2013) observaram que 24, 12 e 12 semanas de TC, respectivamente, não proporcionaram nenhum efeito anti-inflamatório em indivíduos com CI, apesar de aumentarem a capacidade de caminhada desses indivíduos. Corroborando com esses resultados, outro estudo que avaliou a adesão de neutrófilos em 24 indivíduos com CI após 14 dias de treinamento, também não evidenciou melhora do perfil inflamatório dos indivíduos (AROSIO et al., 2001).

Considerando-se o TC e as variáveis de estresse oxidativo, as informações são bastante escassas. Um estudo (TURTON et al., 2002) avaliou os níveis sanguíneos da peroxidação lipídica de 46 indivíduos com CI e 22 indivíduos controles, após três e seis meses de treinamento em esteira ergométrica. Em nenhum dos momentos pós-intervenção houve modificação nessa variável. Corroborando com esses resultados, Nowak et al. (2012) mostraram que apenas um gene antioxidante (*HMOX2*) tendeu a aumentar ($p=0.06$) após 12 semanas TC em 12 indivíduos com CI. Em contrapartida, outro estudo (DOPHEIDE et al., 2015), que avaliou a produção de espécies reativas de oxigênio em 40 indivíduos CI após 12 meses de treinamento, evidenciou melhora desse indicador. Além disso, Schlager et al. (2011) mostraram que a dimetilarginina assimétrica, um modulador natural de estresse oxidativo, reduziu após 24 semanas de TC em indivíduos com CI.

Em relação a produção de NO, Arosio et al. (1999) avaliaram a produção desse marcador em 20 indivíduos com CI após 14 dias de treinamento e evidenciaram melhora. Corroborando esses dados, outro estudo (ALLEN et al., 2010) demonstrou aumento do nitrito plasmático após 12 semanas de TC em 28 claudicantes. No entanto, Delaney et al. (2015) mostraram manutenção do NO avaliado em 35 indivíduos com CI após 12 semanas de TC, apesar do aumento da capacidade de caminhada.

Novamente, a divergência e ausência de resultados pode se dever à variação ou inadequação dos protocolos de TC, sendo interessante observar os efeitos do TC em marcadores de função endotelial, inflamação e estresse oxidativo utilizando um protocolo de treinamento que já tenha demonstrado produzir benefícios na função e regulação cardiovascular. É interessante observar também que a maioria dos estudos citados investigou a resposta dos marcadores de função endotelial, inflamação e estresse oxidativo no plasma sanguíneo, repercutindo a adaptação sistêmica ao treinamento, enquanto que a origem desses marcadores é a musculatura ativa, que como visto em nosso estudo anterior, pode responder funcionalmente de forma diferente da sistêmica (TC aumentou a vasodilatação no antebraço, mas não na perna afetada pela doença). Dessa forma, é importante avaliar essas respostas não só no sangue, mas

também na musculatura afetada pela doença, o que pode levar a uma compreensão mais abrangente dos efeitos da caminhada nesses indivíduos.

3.7. Resposta aguda ao exercício máximo

Apesar dos benefícios crônicos do TC em indivíduos com CI, a execução de cada sessão de caminhada provoca alterações agudas, como aumento da inflamação, do estresse oxidativo, da disfunção endotelial e da PA

Considerando-se a resposta do NO, Allen et al. (2009) avaliaram em 29 indivíduos a produção de nitrito plasmático após a realização de um teste máximo limitado pelo sintoma de CI e observaram redução dessa variável. Somado a isso, Allen et al. (2010) também relataram essa resposta quando avaliaram indivíduos com CI, 10 minutos após a realização de um teste máximo. Corroborando os achados anteriores, outro estudo (ALLEN et al., 2014) também demonstrou redução do nitrito plasmático após um teste máximo de caminhada. Dessa forma, esses estudos sugerem diminuição do NO e disfunção endotelial em resposta a uma sessão de caminhada máxima nessa população.

É interessante observar que no estudo de Silvestro et al. (2002), a menor resposta vasodilatadora observada após o esforço máximo foi acompanhada por aumento de moléculas de adesão, sugerindo que o exercício máximo piora o estado inflamatório desses indivíduos. De fato, em relação à inflamação, um estudo (NEUMANN et al., 1990) investigou, em 17 indivíduos com CI e 10 indivíduos saudáveis, a contagem e a proporção de neutrófilos ativados após a realização do exercício e os resultados mostraram que o período de isquemia provocado pela CI causou aumento na distribuição e função dos neutrófilos. Adicionalmente, outro estudo (KIRK et al., 1999) comparou 26 indivíduos com CI a 22 controles saudáveis após um teste máximo limitado pela dor de claudicação e observou aumento significante da IL-8 após o exercício, o que reflete a maior ativação dos neutrófilos (HICKMAN; MCCOLLUM; BELCH, 1994). Corroborando esses achados, Brevetti et al. (2001) e Delaney e Spark (2015) observaram, respectivamente, aumento das moléculas de adesão e IL-6 logo após a realização de um exercício máximo em indivíduos com CI. Interessantemente, um estudo realizado por Nowak et al. (2012) relatou aumento do TNF-alfa, no entanto, isso só ocorreu seis horas após a realização do exercício.

Considerando-se o estresse oxidativo, um estudo (SILVESTRO et al., 2002) observou, em 16 claudicantes, aumento nos níveis plasmáticos de peroxidação lipídica em resposta ao exercício máximo. Corroborando com esses resultados, Turton et al. (2002)

observaram aumento da peroxidação lipídica até 60 minutos após a realização de um teste máximo em esteira ergométrica. Porém, nesse estudo, houve também aumento significante da capacidade antioxidante total no grupo dos indivíduos com CI, sendo essa resposta similar à dos indivíduos sem a doença. No entanto, o aumento na resposta oxidante foi maior que a antioxidante, o que resultou em elevação do estresse oxidativo e na consequente oxidação dos lipídeos. Nowak et al. (2012) também observaram aumento de antioxidantes, no caso a SOD, seis horas após a realização do exercício máximo.

Além das respostas anteriores e, diferentemente do observado em indivíduos saudáveis, em indivíduos com CI, durante a caminhada de intensidade leve, a PA e a FC se elevam progressivamente, causando aumento da sobrecarga cardiovascular ao longo da execução do exercício (LORENTSEN, 1972; BAKKE et al., 2007). Um estudo (BAKKE et al., 2007) que comparou a resposta das variáveis cardiovasculares de indivíduos com CI a indivíduos saudáveis observou que a PA aumentou continua e significantemente durante a caminhada nos indivíduos com CI. Corroborando esses resultados, outro estudo (LORENTSEN, 1972) observou maior aumento das PAS e PAD em 13 indivíduos com CI após a realização de exercício com a perna afetada pela doença em comparação ao exercício realizado com a perna não-afetada.

Apesar dessa resposta exagerada das variáveis cardiovasculares à uma sessão de exercício de caminhada, a hipotensão pós-exercício (i.e. redução da PA no período de recuperação) já foi relatada em indivíduos com CI após o exercício de caminhada submáxima (CUCATO et al., 2011; CUCATO et al., 2015; LIMA et al., 2015). No entanto, esse efeito hipotensor não persistiu no período ambulatorial após a sessão de caminhada (CUCATO et al., 2015; LIMA et al., 2015). Fatores como a presença de disfunção endotelial (BREVETTI; SCHIANO; CHIARIELLO, 2008) e o aumento dos níveis de agentes pró-inflamatórios (SIGNORELLI et al., 2003) pós-exercício podem ser responsáveis por prejudicar a vasodilatação pós-exercício, prejudicando a manutenção da hipotensão pós-exercício. Além disso, pelo nosso conhecimento, a ocorrência da hipotensão pós-exercício ainda não foi estudada após o exercício máximo.

Considerando-se em conjunto os pontos anteriores, sugere-se que no indivíduo com CI, a execução da caminhada promove ciclos de isquemia durante o exercício e reperfusão no repouso. Esses ciclos levam ao aumento do estresse oxidativo (SILVESTRO et al., 2002) e à liberação de agentes inflamatórios (SIGNORELLI et al., 2003; PALMER-KAZEN; RELIGA; WAHLBERG, 2009), que conjuntamente promovem redução da biodisponibilidade do NO (DE CATERINA, 2000), prejudicando a função endotelial (SILVESTRO et al., 2002; ANDREOZZI

et al., 2007) e aumentando a PA exacerbadamente durante o exercício (LORENTSEN, 1972; BAKKE et al., 2007). Todas essas alterações podem facilitar o processo de aterogênese e aumentar o risco cardiovascular durante a após a execução do exercício. Por outro lado, algumas evidências apontam que, cronicamente, o exercício pode melhorar a respostas desses marcadores de risco à uma sessão de exercício máximo, o que será abordado no próximo tópico.

3.8.Treinamento de caminhada e resposta aguda ao exercício máximo

Os efeitos crônicos do TC sobre as respostas agudas observadas após uma sessão de caminhada foram pouco investigados. Nesse sentido, os estudos prévios sobre o efeito do treinamento físico na resposta do NO a uma sessão aguda de exercício são escassos e apresentam resultados controversos. Dois estudos realizados com indivíduos com CI (ALLEN et al., 2010; ALLEN et al., 2014) mostraram que 12 semanas de treinamento aumentaram a resposta do nitrito plasmático após exercício máximo. Além disso, outro estudo com mulheres pós-menopausa (NYBERG et al., 2017) também mostrou que o treinamento aumentou a resposta da eNOS muscular após o exercício máximo. Por outro lado, Hoier et al. (2012) avaliaram indivíduos saudáveis e demonstraram que o treinamento não alterou a eNOS muscular pós-exercício moderado contínuo.

Algumas evidências sugerem que o TC pode atenuar as respostas inflamatórias e de estresse oxidativo causadas por uma única sessão de exercício. Nesse sentido, um estudo (TURTON et al., 2002) avaliou os marcadores sanguíneos de dano muscular provocado pelo processo isquemia-reperfusão em 46 indivíduos com CI e 22 controles antes e após três meses de TC. Para tanto, os participantes realizaram um teste máximo em esteira ergométrica no início e no final do estudo e os resultados mostraram aumento significante da ativação de neutrófilos e da peroxidação lipídica com o exercício tanto no início quanto no fim do treinamento. Entretanto, após 12 semanas de TC, a resposta inflamatória e de estresse oxidativo ao esforço máximo foram显著mente menores. Em um estudo mais recente (DELANEY; SPARK, 2015), dois tipos de treinamento (apenas caminhada e caminhada com treinamento de força) foram realizados e, interessantemente, após 12 semanas, apenas o TC reduziu alguns indicadores pró-inflamatórios após uma sessão aguda de exercício. Sendo assim, esses achados sugerem que o TC em indivíduos com CI diminui os efeitos inflamatórios e de estresse oxidativo do processo de isquemia-reperfusão que ocorre durante a claudicação induzida pelo esforço físico. Em contrapartida, outro estudo (NOWAK et al., 2012) que avaliou o impacto de 12 semanas de TC na resposta de genes de expressão antioxidante e concentrações plasmáticas

de citocinas após um teste máximo relatou um comportamento diferente. Nesse estudo, os resultados mostraram que o treinamento aumentou a capacidade de caminhada e atenuou alguns genes de expressão antioxidante, além de aumentar a produção de algumas citocinas pró-inflamatórias após o teste máximo. Além disso, Nawaz et al. (2001) observaram que a resposta inflamatória à uma sessão aguda de exercício não foi afetada por dois protocolos de seis semanas de treinamento com cicloergômetro, um para os membros inferiores e outro para os membros superiores, apesar de ambos os programas de treinamento melhorarem significativamente as distâncias de caminhada dos indivíduos.

Com relação às variáveis cardiovasculares, ainda não se sabe se um período de TC poderia resultar em maior queda da PA pós-exercício em indivíduos com CI, o que precisa ser estudado. Entretanto, em indivíduos com doença renal crônica, Headley et al. (2017) demonstraram que a resposta da PA após uma sessão de exercício aeróbio não se modificou após 16 semanas de treinamento de intensidade moderada (50 – 60% do VO_2 pico). Corroborando esses resultados, Cornelissen et al. (2010) observaram que dois protocolos de treinamento aeróbio realizados durante 10 semanas com diferentes intensidades (33 ou 66% da FC de reserva) também não modificaram a resposta da PA após um teste de exercício máximo em idosos saudáveis. No mesmo sentido, Bonsu e Terblanche (2016) não relataram modificação na resposta da PA após um teste incremental até a exaustão após 2 semanas de treinamento aeróbio de alta intensidade (90 – 95% da $HR_{máx}$) em mulheres saudáveis.

Portanto, existem poucos estudos sobre os efeitos do TC nas respostas agudas de função e regulação cardiovascular, função endotelial, inflamação e estresse oxidativo ao esforço físico máximo em indivíduos com CI, o que precisa ser estudado. Além disso, a maior parte dos estudos avaliou apenas a resposta sistêmica, sendo interessante avaliar também a resposta na musculatura afetada pela doença.

3.9.Considerações Gerais da Revisão

Diante do exposto, verifica-se que a DAP é uma doença cardiovascular com alta prevalência, principalmente em indivíduos idosos, e que se caracteriza pela redução da capacidade de caminhada, qualidade de vida e aumento da morbimortalidade cardiovascular. O aumento do risco cardiovascular nessa população se associa, entre outros fatores, ao aumento de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, levando à redução da biodisponibilidade de NO. Além disso, indivíduos com DAP e CI têm disfunção autonômica e apresentam aumento da PA, o que aumenta a sobrecarga cardiovascular, aumentando o risco desses indivíduos.

Dessa forma, é importante que as condutas de tratamento desses indivíduos aumentem não só a capacidade de marcha, mas também melhorem o perfil inflamatório e de estresse oxidativo, melhorando as funções endotelial, autonômica e cardiovascular.

A caminhada é o tratamento inicial para indivíduos com DAP e CI devido à melhora que provoca na capacidade de marcha e qualidade de vida. Além disso, o protocolo de TC desenvolvido por nosso grupo foi eficaz em melhorar a função e regulação cardiovasculares. Em relação aos efeitos da TC sobre os marcadores inflamatórios, de estresse oxidativo e de função endotelial, poucos estudos foram realizados e eles apresentam respostas controversas e que se baseiam, quase que exclusivamente, em marcadores avaliados no plasma sanguíneo e que, portanto, refletem apenas a resposta sistêmica. Dessa forma, torna-se importante avaliar o efeito de um protocolo de TC sobre esses marcadores avaliados tanto no sangue quanto na musculatura afetada pela doença para uma compreensão mais abrangente dos efeitos do treinamento.

É importante ressaltar, também, que uma sessão de caminhada máxima, muitas vezes recomendada a esses indivíduos como forma de treinamento, promove uma resposta aguda caracterizada por aumento da sobrecarga cardiovascular, piora na função endotelial e aumento de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo. Por outro lado, é possível que o TC minimize estas respostas agudas, o que precisa ser avaliado de forma mais consistente.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi verificar, em indivíduos com DAP e sintomas de CI, o efeito de um período de TC sobre a função e regulação cardiovasculares, bem como sobre marcadores locais e sistêmicos de função endotelial, inflamação e estresse oxidativo, avaliados em repouso e após uma caminhada até a dor máxima de claudicação.

As hipóteses do presente estudo são que:

- a) Doze semanas de TC resultarão em melhora da capacidade de deambulação, evidenciada por aumento na DIC e DTC. Essa resposta será acompanhada por uma redução sistêmica e local dos marcadores de estresse oxidativo e inflamação, com consequente aumento da biodisponibilidade do NO. Essas alterações se acompanharão de redução da FC e da PA, relacionadas a um aumento da modulação parassimpática cardíaca e redução da modulação simpática cardíaca e vasomotora.
- b) Uma sessão aguda de caminhada até o esforço máximo promoverá aumento do estresse oxidativo e da inflamação muscular e sistêmica, reduzindo a biodisponibilidade de NO. Esses efeitos serão mais evidentes na perna afetada pela doença que no sangue. Além disso, após o esforço, a PA não diminuirá e a

FC e o trabalho cardíaco permanecerão elevados, juntamente com a modulação simpática cardíaca.

- c) Doze semanas de TC supervisionada diminuirão as respostas agudas observadas após uma sessão de caminhada até o esforço máximo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Amostra

Foram selecionados para participar deste estudo, indivíduos do sexo masculino com DAP e sintomas de CI recrutados no Ambulatório de Claudicação Intermittente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFEUSP – processo CEP667.382 – ANEXO 1) e registrado no Brazilian Clinical Trials (RBR-3pq58k).

Como critérios de inclusão, os indivíduos deveriam apresentar as seguintes características: a) idade ≥ 50 anos; b) DAP avaliada pelo índice tornozelo/braço (ITB) ≤ 0.9 em, pelo menos, um dos membros inferiores (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007); e c) CI identificada pelo grau II da DAP, segundo os critérios de Fontaine; Kim e Kieny (1954). Os indivíduos que apresentaram essas características, se voluntariaram a participar do estudo e assinaram o termo de consentimento em participar foram incluídos.

Foram critérios de exclusão: a) incapacidade de caminhar em esteira por pelo menos 2 minutos com velocidade de 3,2 km/h; b) obesidade grau II ou maior; c) PAS e PAD maior que 160 e 105 mmHg, respectivamente; d) cirurgia de revascularização ou angioplastia há menos de um ano; e) uso de vasodilatadores periféricos, anticoagulante clopidogrel, betabloqueadores ou inibidores de canais de cálcio não diidropiridínicos; f) presença de arritmias complexas ou isquemia durante realização do teste de esforço; g) presença de diabetes com complicações, disfunção autonômica ou em uso de insulina; h) presença de contraindicação para a realização de exercício físico; e i) presença de amputação em algum dos membros inferiores.

Para checar o atendimento aos critérios de participação no estudo, todos os indivíduos realizaram uma série de exames preliminares. Os que preencheram todos os critérios foram, então, avaliados (início do estudo) e, em seguida, alocados de forma aleatória em 2 grupos: treinamento de caminhada (TC) e controle (CO). Esses grupos passaram por intervenções específicas por 12 semanas e foram reavaliados após esse período (final do estudo). Foram excluídos durante a intervenção, os indivíduos que modificaram a terapêutica medicamentosa ou tiveram modificações clínicas que não permitiram a continuidade da participação.

4.2. Exames preliminares

4.2.1. Avaliação clínica

Os voluntários foram avaliados por um médico, que levantou os dados pessoais, histórico de saúde e o uso de medicamentos, além de fazer uma avaliação clínica e ortopédica. Foram excluídos, os indivíduos que não se enquadram nos critérios descritos anteriormente em relação aos aspectos clínicos, uso de medicamentos, presença de amputações e possibilidade de realização de exercício.

4.2.2. Diagnóstico da doença arterial periférica

A confirmação do diagnóstico da DAP foi feita pela medida do ITB em repouso (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007). Para essa medida, as PAS do braço e do tornozelo foram medidas em triplicata nos dois membros, com o indivíduo em repouso deitado por, pelo menos, 5 minutos. A medida da PA no braço foi feita com o uso de um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio (Unitec – São Paulo, Brasil) e um estetoscópio (Littman Brand 3M Classic II S.E. – São Paulo, Brasil). O manguito foi colocado no braço do indivíduo, cerca de dois a três centímetros acima da fossa antecubital e a PAS foi medida no momento do aparecimento do primeiro som (fase I de Korotkoff). Para a medida da PAS no tornozelo, foi utilizado um Doppler ultrassom (IMBRACRIOS®, Direcional DD702 – São Paulo, Brasil). O manguito foi colocado na perna do indivíduo, dois a três centímetros acima do maléolo medial. A PAS foi determinada pelo aparecimento do primeiro som detectado pelo equipamento Doppler durante a desinflação. As medidas da PAS do braço e do tornozelo foram realizadas simultaneamente por dois avaliadores experientes. Com esses dados, o ITB de cada lado do corpo foi calculado pela divisão da PAS do tornozelo de cada lado do corpo pela maior PAS medida nos braços. A presença da DAP foi confirmada pelo valor de $ITB \leq 0,90$ em um ou nos dois membros.

Como exame auxiliar, a palpação dos pulsos arteriais periféricos (femoral, poplíteo, tibial posterior e pedal) foi realizada nos dois membros inferiores por um médico experiente (HIRSCH et al., 2006; NORGREN et al., 2007), com o objetivo de verificar o local da obstrução na artéria em cada membro afetado.

4.2.3. Diagnóstico de obesidade

O peso e a estatura foram medidos numa balança (Welmy, 110 – São Paulo, Brasil) e o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pelo quociente entre o peso (kg) e o quadrado da estatura (m^2). Apenas participaram do estudo, os indivíduos com $IMC \leq 35 \text{ kg/m}^2$, ou seja, abaixo do grau II de obesidade.

4.2.4. Avaliação da pressão arterial

A PA dos indivíduos foi medida em uso regular da medicação. A medida foi realizada, em ambos os membros superiores, utilizando o método auscultatório, com um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio (Unitec – São Paulo, Brasil) e empregando-se as fases I e V dos sons de Korotkoff para a identificação dos valores de PAS e PAD, respectivamente. As medidas foram realizadas após os indivíduos permanecerem sentados em repouso por, pelo menos, 5 minutos. Em cada braço, foram feitas várias medidas com intervalo de 30 segundos entre elas, até que foram obtidos três valores consecutivos com diferença inferior a 5 mmHg (medidas válidas). Esse procedimento foi repetido em duas visitas ao laboratório em dias distintos. Para a definição do valor da PA, foi calculada a média das seis medidas válidas em cada braço e foi considerado o valor obtido no braço com maior PA. Foram excluídos do estudo, os voluntários com PAS e PAD maiores que 160 e 105 mmHg, respectivamente. Esses são os valores aceitos como seguros para se iniciar sessões de exercício físico (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 2006).

4.2.5. Avaliação dos diabéticos

Nos indivíduos diabéticos, a medicação antidiabética e a presença de neuropatia foram avaliadas. Os indivíduos em uso de insulina foram excluídos. Além disso, a presença de neuropatia autonômica cardiovascular foi avaliada pela bateria de testes recomendados pela Diretriz da American Diabetes Association (BOULTON et al., 2005). Nesses testes, os indivíduos deveriam: 1) possuir FC de repouso $< 100 \text{ bpm}$ na posição deitada; 2) apresentar variação de, pelo menos, 15 bpm na FC durante a manobra de respiração controlada com 5 segundos de inspiração e 5 segundos de expiração por 1 minuto; 3) apresentar razão de, pelo menos, 1,03 entre a FC medida no 30° e no 15° intervalo RR após a adoção da posição em pé a partir da posição deitada; 4) apresentar redução da PAS menor que 30 mmHg ou $\geq 30 \text{ mmHg}$

mas sem sintomas, 2 minutos após adotar a posição em pé a partir da posição deitada; e 5) apresentar uma razão maior que 1,2 entre o maior e o menor intervalos RR medidos durante a Manobra de Valsalva realizada em 40 mmHg por 15 segundos. A presença de alteração em um desses testes excluiu o indivíduo do estudo.

4.2.6. Teste ergoespirométrico

Todos os indivíduos realizaram um teste ergoespirométrico máximo, que foi precedido pela realização de um eletrocardiograma (ECG) de repouso (Medical Graphics Corporation, Cardio Perfect – Minnesota, Estados Unidos). O teste foi realizado em esteira rolante (IMBRASPORT, ATL – Rio Grande do Sul, Brasil), utilizando-se um protocolo específico para indivíduos com CI (GARDNER et al., 1991), ou seja, com velocidade constante de 3,2 km/h e incrementos de 2% na inclinação a cada 2 minutos até a exaustão. Durante o teste, o ECG de 12 derivações foi continuamente monitorizado (Medical Graphics Corporation, Cardio Perfect – Minnesota, Estados Unidos) e a FC foi registrada ao final de cada minuto. A PA foi medida a cada 2 minutos com o método auscultatório descrito anteriormente. No momento em que o indivíduo relatou sentir o início do sintoma de dor no membro inferior foi anotada a DIC e esse momento foi considerado como limiar de dor. O teste foi interrompido quando o indivíduo não suportou mais a dor e, nesse momento, foi anotada a DTC. O consumo de oxigênio foi continuamente medido a cada ciclo respiratório por um analisador de gases computadorizado (Medical Graphics Corporation, CPX2D – Minnesota, Estados Unidos). O VO₂ pico foi estabelecido pelo valor mais alto obtido durante o esforço em médias de 30 segundos.

Foram excluídos do estudo, os indivíduos que não conseguiram caminhar 2 minutos em 3,2 km/min (1º estágio do teste), não relataram dor na perna durante o teste, interromperam o teste por outro motivo que não a dor nos membros inferiores e/ou apresentaram isquemia ou arritmias complexas durante o teste, que contraindicavam a realização de exercícios físicos.

4.3. Medidas

4.3.1. Frequência cardíaca

Nas sessões experimentais, o sinal eletrocardiográfico foi constantemente monitorado (ECG, EMG SYSTEM, EMG 030110/00B – São Paulo, Brasil) e os valores de FC

derivaram do ECG. Além disso, em momentos específicos das sessões, esse sinal foi gravado em microcomputador, através do programa Windaq (AKRON, Windaq DI-720 – Ohio, Estados Unidos), com frequência de amostragem de 500 Hz para posterior realização da análise espectral.

4.3.2. Pressão arterial

Nas sessões experimentais, a medida auscultatória da PA foi realizada no braço dominante do indivíduo, utilizando-se um estetoscópio e uma coluna de mercúrio e empregando-se as fases I e V dos sons de Korotkoff para a identificação da PAS e PAD, respectivamente. Essa medida foi sempre realizada pelo mesmo avaliador experiente no mesmo indivíduo. A PAM foi calculada pela fórmula: $PAM = (PAS - PAD)/3+PAD$.

Além disso, em momentos específicos das sessões experimentais, a PA foi também medida batimento a batimento pela técnica fotopletismográfica. Para isso, um manguito de tamanho adequado foi colocado no dedo médio da mão dominante do indivíduo e foi acoplado a um monitor automático, que obtém medidas da PA a cada batimento cardíaco (FINAPRESS MEDICAL SYSTEM, Finometer Pro – Amsterdam, Holanda). A onda de PA foi digitalizada e gravada em microcomputador, através do programa Windaq (AKRON, Windaq DI-720 – Ohio, Estados Unidos), com frequência de amostragem de 500 Hz para posterior realização da análise espectral.

4.3.3. Duplo produto

Nas sessões experimentais, o trabalho cardíaco foi avaliado pelo DP calculado pelo produto entre a FC e a PAS auscultatória.

4.3.4. Respiração

Nas sessões experimentais, os movimentos respiratórios foram monitorados por uma cinta respiratória piezoelétrica (UFI, Pneumotrace – Califórnia, Estados Unidos) posicionada no tórax do indivíduo. O sinal obtido com esta cinta foi amplificado, digitalizado e gravado em microcomputador por meio do programa Windaq (AKRON, Windaq DI-720 – Ohio, Estados Unidos) com uma frequência de amostragem de 500 Hz para posterior realização da análise espectral.

4.3.5. Modulação autonômica cardíaca

As modulações simpáticas e parassimpáticas do sistema cardiovascular foram avaliadas pela análise espectral das variabilidades da FC e da PA. Para isso, as ondas eletrocardiográficas, da respiração e da PA, que foram gravadas pelo sistema Windaq (AKRON, Windaq DI-720 – Ohio, Estados Unidos) foram analisadas pelo programa Heart Scope II (A.M.P.S LLC, Versão 1.3.0.3 – New York, USA). Esse programa forneceu os valores de intervalo R-R, PAS, PAD e respiração a cada ciclo cardíaco, gerando quatro séries temporais. Em seguida, esses sinais foram analisados no domínio da frequência pelo método autorregressivo. Para tanto, em seguimentos estacionários de 300 batimento das séries temporais, os parâmetros autorregressivos foram estimados pelo recurso de Levingson-Durbin e a ordem do modelo foi escolhida pelo critério de Akaike. Com esse procedimento, foi possível calcular o poder espectral total e quantificar a frequência central e o poder de cada componente relevante do espectro: banda de baixa e de alta frequências.

Para se avaliar a relação da variabilidade da FC com a da respiração foi realizada a coerência entre os picos de alta e baixa frequência das variabilidades desses sinais. Foram considerados picos de alta frequência, aqueles obtidos entre as frequências de 0,15 e 0,4Hz e que apresentaram coerência acima de 0,50 com a respiração. Na ocorrência de mais de um pico com essas características, os poderes espetrais foram somados e o valor final foi definido como o poder da banda de alta frequência (AF_{R-R}). Foram considerados picos de baixa frequência, aqueles observados entre 0,04 e 0,15Hz e que não apresentaram coerência superior a 0,50 com a respiração. Quando mais de um pico apresentou essas condições, os poderes espetrais foram somados para definir a banda de baixa frequência (BF_{R-R}). As bandas foram avaliadas em valores absolutos e normalizados. O processo de normalização de cada banda foi realizado dividindo-se o valor da banda pelo valor total do espectro, do qual foi subtraído o valor da banda de muito baixa frequência (MBF, <0,04Hz). O resultado foi, então, multiplicado por 100. Essa análise seguiu as recomendações do *Task Force* sobre o assunto (TASK FORCE, 1996).

O valor normalizado de AF_{R-R} foi considerado como representante da modulação parassimpática cardíaca, enquanto o valor normalizado de BF_{R-R} foi interpretado como decorrente, principalmente, da modulação simpática para o coração. A razão entre as bandas (BF/AF_{R-R}) foi considerada como o balanço simpatovagal cardíaco. A modulação simpática vasomotora foi considerada pela análise dos valores absolutos da variância total e da banda de baixa frequência das variabilidades das PAS (BF_{PAS}) e PAD (BF_{PAD}) (TASK FORCE, 1996).

A sensibilidade espontânea do barorreflexo foi avaliada através do método sequencial utilizando-se o software Heart Scope II (A.M.P.S LLC, Versão 1.3.0.3, New York, USA). Esse método selecionou sequências de três ou mais batimentos consecutivos com mudanças no mesmo sentido da PAS (≥ 1 mmHg) e do intervalo cardíaco (≥ 4 ms). Em cada uma dessas sequências, foi calculada a equação de regressão linear e somente foram aceitas como relacionadas ao controle barorreflexo, as sequências com coeficiente de correlação igual ou maior que 0,8. Para cada sequência válida, foi calculada a inclinação da reta de regressão linear e a SBR foi calculada pelo valor médio de todas as inclinações válidas.

4.3.6. Dosagens sanguíneas

Nas sessões experimentais, amostras de sangue foram coletadas através da punção da veia braquial e colocação de um cateter que foi mantido patente por salinização. Em cada coleta, 16 ml de sangue foram colocados em tubos contendo EDTA que foram prontamente centrifugados (3000 rpm, 10 min, 4°C). O plasma foi, então, transferido para tubos de microcentrífuga (1,5 ml) que foram armazenados a -80°C.

4.3.6.1. Óxido nítrico no sangue

A concentração de espécies relacionadas ao NO foi analisada pelo método de quimiluminescência. Para tanto, foi utilizado um analisador de NO (Sievers ® Óxido Nítrico Analyzer NOA 280, Model 280 – Boulder – Estados Unidos). As amostras de plasma foram injetadas em frascos contendo uma solução redutora (5 ml de ácido acético glacial, 2 ml de H₂O, 50 mg de iodeto de potássio e um pequeno cristal de I₂), que converteu o nitrito no gás NO. O frasco, então, foi conectado a um fluxo contínuo do gás inerte (Hélio), que passou através da solução, carregando o NO liberado em direção ao analisador NOA 280. A quantidade de NO produzida foi medida após a reação do NO com ozônio numa câmara do analisador NOA 280, criando moléculas de nitrito, que no seu estado excitado emitiram luz proporcional à quantidade de NO liberada pela amostra. Então, o analisador detectou o sinal luminoso e o transformou em sinal elétrico, que foi convertido em sinal analógico e registrado.

4.3.6.2. Marcadores de estresse oxidativo no sangue

A atividade da SOD foi avaliada pelo kit *Superoxide Dismutase Assay* (Cayman Chemical – Michigan, Estados Unidos), enquanto que a atividade da CAT foi medida pelo *kit Catalase Assay* (Cayman Chemical – Michigan, Estados Unidos) e a LPO pelo *Lipid Hydroperoxide Assay* (Cayman Chemical – Michigan, Estados Unidos). Todas as análises seguiram as recomendações dos fabricantes. Assim, na análise da SOD, foi utilizado o sal de tetrazólio para a detecção de radicais superóxido gerados através da xantina oxidase e hipoxantina. Uma unidade da enzima SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para provocar 50% de dismutação do radical superóxido. O método de análise da CAT foi baseado na reação da enzima com metanol na presença de uma concentração ótima de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O formaldeído produzido foi medido colorimetricamente com 4-amino-3-hidrazino-5-mercaptop-1,2,3-triazole (Purpald) como cromogênio. A Purpald formou, especificamente, um heterociclo bicíclico com aldeídos, que após a oxidação alterou de incolor para uma cor roxa. Já a LPO foi medida utilizando diretamente as reações redox com íons ferrosos. Hidroperóxidos são altamente instáveis e reagem rapidamente com os íons ferrosos para produzirem íons férricos. Os íons férricos resultantes foram detectados utilizando o íon tiocianato como cromogênio.

4.3.6.3. Marcadores inflamatórios no sangue

As concentrações plasmáticas de IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM foram medidas pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immuno-Sobent Assay*), utilizando-se, respectivamente, os kits: *interleukin-6 (human) Elisa Kit* (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan); *C-Reactive Protein (human) Elisa Kit* (Cayman Chemical – Michigan, Estados Unidos); *Human TNF- α Immunoassay* (R&D Systems – Minnesota, Estados Unidos); *Human sICAM-1/CD54 Immunoassay* (R&D Systems – Minnesota, Estados Unidos); e *Human sVCAM-1/CD106 Immunoassay* (R&D Systems – Minnesota, Estados Unidos). Esses ensaios basearam-se na técnica de "sanduíche" de duplo anticorpo. Para a análise desses marcadores inflamatórios, cada um dos poços das placas de micropoços fornecidas com os kits foram revestidos com um anticorpo monoclonal de rato específico para esses marcadores. Esses anticorpos se ligaram a qualquer IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM introduzidos nos poços. Assim, as amostras foram incubadas na placa revestida com o anticorpo e a placa foi lavada antes da adição de um segundo anticorpo. Os dois anticorpos formaram um "sanduíche",

ligando-se a diferentes locais sobre as moléculas dos marcadores inflamatórios avaliados. As concentrações de IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM foram determinadas através da medição da atividade enzimática do segundo anticorpo. Para isso, após um período de tempo suficiente, a reação foi parada com ácido sulfúrico, formando um produto de cor amarela distinta, que foi medido a 450 nm. A intensidade da cor determinada espectofotometricamente foi diretamente proporcional à quantidade do segundo anticorpo ligado, que foi proporcional à concentração de IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM.

4.3.7. Dosagens musculares

Nas sessões experimentais, amostras de tecido do músculo gastrocnêmio da perna mais afetada pela doença (i.e. com menor ITB) foram retiradas por biopsia muscular, seguindo a técnica de Bergstrom (1975). Esse procedimento foi realizado por um médico treinado e com experiência na execução dessa técnica. Antes da extração do tecido, a área foi tricotomizada e limpa com antisséptico (iodo povidine tópico). Uma pequena área, sobre a região selecionada, foi anestesiada com xilocaína a 2%, injetada subcutaneamente. Após a anestesia, uma pequena incisão de, aproximadamente, 0,5 cm de comprimento, foi feita até a fáscia do músculo utilizando um bisturi cirúrgico. A agulha de biópsia (Dixon, UCH Skeletal Muscle Biopsy Needle, with aspiration – Wickford, Reino Unido) foi, então, introduzida no músculo numa profundidade aproximada de três centímetros para obtenção da amostra de tecido muscular (~70 a 100 mg). Após a retirada do tecido, a incisão foi fechada e coberta por bandagens.

As amostras foram limpas (retirada de sangue e excesso de tecido conectivo) e divididas em alíquotas de, aproximadamente, 40 mg, sendo imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e conservadas em -80°C até o momento das análises.

4.3.7.1. Marcadores de estresse oxidativo no músculo

Para todas as análises dos marcadores de estresse oxidativo, as amostras de músculo foram homogeneizadas em tampão fosfato (50mM PBS, pH 7,4 + 1mM EDTA) e centrifugadas à 12000 rpm durante 15 minutos (4°C).

A atividade da SOD foi avaliada pelo método que consiste na capacidade dessa enzima em catalisar a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. A avaliação da atividade da enzima SOD baseou-se na proteção (pelo extrato celular que contém SOD) da redução de citocromo c3+ em citocromo c2+, que ocorre pela produção de ânion

superóxido pelo sistema enzimático xantina/xantina oxidase. Para tanto, inicialmente, foi avaliada a taxa de redução de citocromo C na ausência de amostra pela leitura da taxa de alterações de absorbância em 550nm durante 5 minutos em solução contendo citocromo C (19mM), xantina (1,18mM) e xantina oxidase diluídos em tampão fosfato (0,05 M, pH 7,8). A concentração de xantina oxidase foi ajustada para uma taxa de redução de citocromo C entre 0,020 e 0,025 unidades de absorbância por minuto (UA/min). Na sequência, a taxa de redução de citocromo C foi acompanhada durante 5 minutos na presença da amostra (sobrenadante do homogenato do músculo) diluída na solução supracitada. A atividade de SOD da amostra foi então calculada pela diferença entre a taxa de oxidação de citocromo C na ausência e na presença da amostra e foi expressa em U/mg de proteína.

A atividade da CAT foi avaliada pelo acompanhamento da decomposição do peróxido de hidrogênio adicionado ao homogenato do músculo por meio da leitura de absorbância em 240nm. Para isso, a fração sobrenadante do homogenato foi utilizada no ensaio, o peróxido de hidrogênio foi adicionado ao lisado na concentração final de 10 mM e a absorbância em 240 nm foi acompanhada durante 4 minutos. A taxa de decaimento da absorbância correspondeu à atividade da CAT presente na amostra testada, que foi expressa em abs/min/mg de proteína.

A LPO foi avaliada pela concentração de hidroperóxidos lipídicos, que são produtos primários da peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados. A avaliação dessa concentração em amostras biológicas utiliza o xilenol orange. Esse método baseia-se no princípio de que os hidroperóxidos oxidam ferro II a ferro III, que reage com o xilenol orange, produzindo um cromóforo que tem absorção máxima em 560 nm. Para ao ensaio foi utilizada a fração sobrenadante do homogenato tratada com metanol absoluto na proporção 1:10 (metanol:amostra), deixada durante 10 minutos no gelo e centrifugada por 10 min a 1000 g. Uma curva de padrões de peróxido de hidrogênio e um mix (1mM Sulfato de ferro e amônio + 250mM de ácido sulfúrico + 1mM de xilenol Orange) foram preparados. Depois, o mix foi adicionado aos padrões e às amostras e, então, a leitura da placa foi realizada em um comprimento de onda de 560 nm. Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

4.3.7.2.Expressão gênica da eNOS e dos marcadores inflamatórios no músculo

A expressão gênica da eNOS e dos fatores inflamatórios foi avaliada pela técnica de Transcriptase Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (RT-PCR). Para isso, foram realizadas a etapas a seguir:

- *Extração de RNA* – O RNA total do músculo gastrocnêmio foi extraído em 1 ml de Trizol, conforme a indicação do fabricante (Invitrogen, Massachusetts, Estados Unidos). As amostras de RNA foram analisadas por espectrofotometria em 260 a 280 nm (Nano-Drop Technologies – Massachusetts, Estados Unidos) e a integridade das amostras foi verificada por eletroforese, utilizando gel de agarose-Nancy-520 (Sigma-Aldrich – Missouri, Estados Unidos).
- *Síntese do cDNA do RNAm* – Para a conversão de RNA em DNA complementar (cDNA) foi utilizado 2 µg de RNA total, 1 µL de dNTP mix 10nM, 1 µL de Oligo_(dT) (50 ng. µL⁻¹) e 8 µL de H₂O DEPC, conforme indicação do fabricante (Invitrogen, – Massachusetts, Estados Unidos).
- *PCR em tempo real* – Os ensaios da análise da expressão gênica da eNOS, IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM foram feitos de acordo com o protocolo descrito por Syber Green (Applied Biosystems – Califórnia, Estados Unidos). Foi utilizado como controle normalizador o gene da ciclofilina e os primers foram desenhados utilizando o software Basic Local Alignment Search Tool (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Nas análises dessas variáveis para o objetivo específico 1, que comparou na amostra total as respostas pré e pós a caminhada máxima, os resultados da expressão gênica foram demonstrados em expressão relativa ao período pré-exercício de todos os indivíduos. Por outro lado, nas análises do objetivo específico 2 (2a, 2b1 e 2b2), ou seja, os efeitos do TC em repouso e após a caminhada máxima, os resultados da expressão gênica foram demonstrados em expressão relativa ao grupo CO avaliado no início do estudo.

4.4. Intervenções

4.4.1. Intervenção para todos os indivíduos

Por questões éticas e para garantir o tratamento recomendado para indivíduos com DAP e CI (HIRSCH et al., 2006; NORRGREN et al., 2007), todos os indivíduos que participaram do estudo, independentemente do grupo para o qual foram sorteados, receberam numa consulta individual realizada no início do estudo, a recomendação para praticar 30 minutos diários de caminhada não supervisionada. A realização dessa atividade foi checada semanalmente durante o estudo, anotando-se sua execução, frequência e duração.

4.4.2. Treinamento de caminhada

O TC foi realizado no espaço destinado ao Programa de Envelhecimento Saudável do HCFMUSP ou no Laboratório de Hemodinâmica da Atividade Motora da EFEUSP. Esse treinamento consistiu de 12 semanas de sessões supervisionadas, com duração de 60 minutos e frequência de duas sessões semanais, realizadas em dias não consecutivos. O treinamento foi constituído, exclusivamente, por caminhada em esteira ergométrica, que foi realizada de forma intervalada, com 15 séries de dois minutos de caminhada, seguidos por dois minutos de recuperação passiva em pé na esteira, totalizando 30 minutos de ação efetiva. A intensidade da caminhada foi monitorada pela FC por meio de um monitor cardíaco e foi estabelecida pela FC na qual o limiar de dor foi atingido no teste ergoespirométrico máximo, estabelecendo-se uma variação máxima de 4 bpm para cima ou para baixo. A velocidade foi mantida em 3,2 km/h e o ajuste da intensidade foi feito pela mudança da inclinação da esteira para que a FC de treino fosse mantida na faixa prescrita. Durante o treinamento, foram anotados em cada série: a FC no final do exercício e o momento do início da dor. Sempre que a FC numa série não atingiu a faixa de treinamento desejada, a inclinação da esteira foi aumentada na série seguinte.

4.4.3. Intervenção controle

Os indivíduos alocados no CO participaram, por 12 semanas, de aulas de alongamentos com duração de 30 minutos, realizadas 2 vezes/semana. As aulas foram realizadas no espaço destinado ao Programa de Envelhecimento Saudável do HCFMUSP ou no Laboratório de Hemodinâmica da Atividade Motora da EFEUSP. Em cada aula, os indivíduos realizaram diferentes exercícios de alongamentos para os principais grupamentos musculares, incluindo pernas, braços e tronco. O alongamento foi realizado de forma passiva e a posição de máxima de alongamento sem dor em cada exercício foi mantida por, pelo menos, 20 segundos.

4.5. Protocolo experimental

O esquema pormenorizado do protocolo experimental utilizado nesse estudo está apresentado na figura 2. Todos os indivíduos, que apresentaram as características de inclusão do estudo e que estavam dispostos a participar, assinaram o termo de consentimento e realizaram os exames preliminares. A partir dos resultados dessas avaliações, foram excluídos aqueles que não preencheram totalmente os critérios estabelecidos.

Os indivíduos que preencheram os critérios do estudo iniciaram o protocolo experimental realizando uma sessão experimental de caminhada até a dor máxima (chamada a partir desse momento de caminhada máxima) para a avaliação da resposta cardiovascular, autonômica, inflamatória, da função endotelial e do estresse oxidativo ao exercício (avaliação do início do estudo). Posteriormente, os indivíduos foram divididos, de forma aleatória, a partir de software específico (www.randomizer.org), em dois grupos, TC e CO, e receberam, por 12 semanas, as intervenções descritas anteriormente. Ao final desse período, os indivíduos dos dois grupos, realizaram novamente a sessão experimental de caminhada máxima (avaliação do final do estudo). Essa sessão foi realizada, pelo menos, 48 horas após a última sessão de treinamento.

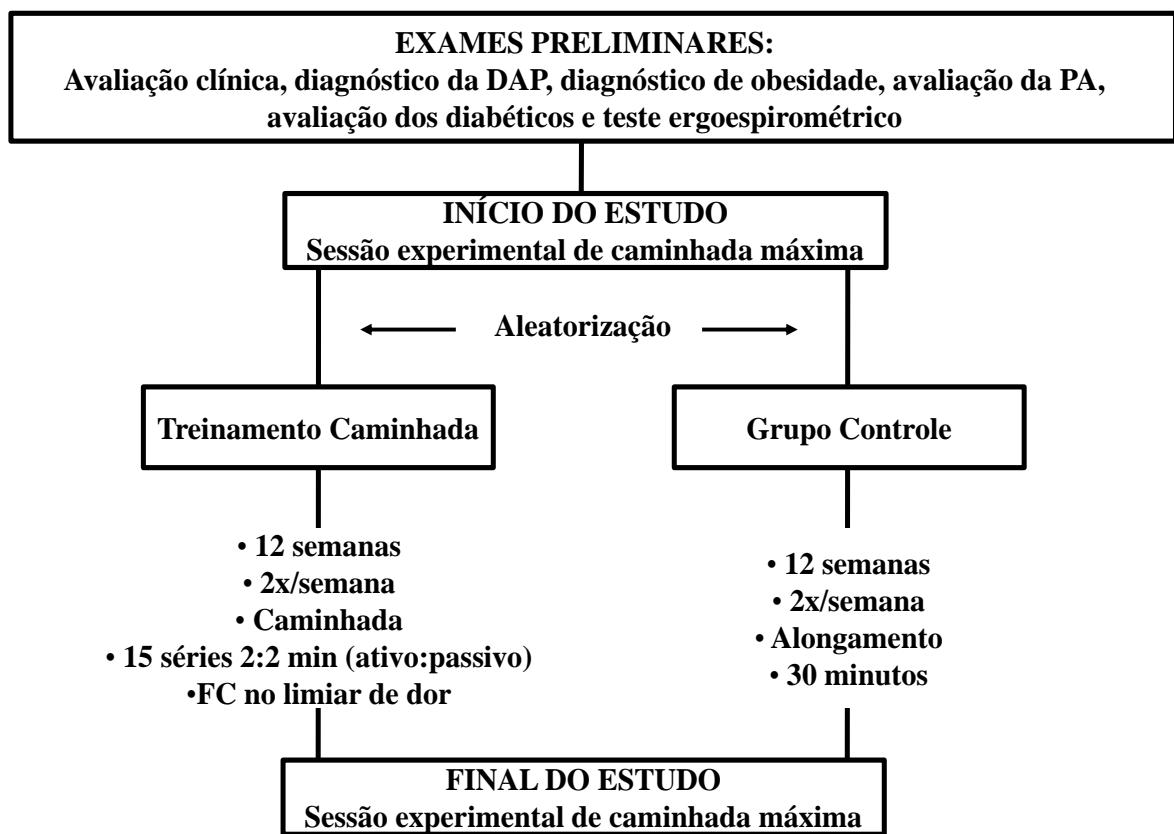


Figura 2. Representação esquemática do protocolo experimental. DAP – Doença arterial periférica; PA – Pressão arterial auscultatória; FC – Frequência cardíaca

4.5.1. Sessões experimentais de caminhada máxima

Para a execução das sessões experimentais de caminhada máxima, os indivíduos compareceram ao Laboratório de Hemodinâmica da Atividade Motora da EFEUSP em jejum de, pelo menos, 12 horas e receberam uma alimentação padrão, constando de duas barras de

cereal e 50 ml de suco. Além disso, abstiveram-se de atividade física nas 48 horas anteriores à sessão e da ingestão de bebidas alcoólicas nas 24 horas anteriores. Os fumantes não fumaram antes da sessão experimental e a medicação foi tomada de forma regular.

A sessão experimental foi iniciada 60 minutos após a ingestão da alimentação padrão e teve duração aproximada de três horas. As sessões foram realizadas no período da manhã, iniciando entre 8:00 e 9:00 h, e a temperatura do laboratório foi mantida entre 20 e 22°C.

O desenho experimental das sessões experimentais está apresentado na Figura 3. Após chegarem ao laboratório, um cateter foi introduzido em uma veia antecubital do braço direito para a retirada de amostras sanguíneas durante o protocolo. Esse cateter foi mantido patente por salinização. Em seguida, eletrodos e manguitos para as demais medidas foram posicionados nos indivíduos, que permaneceram em repouso na posição supina. Após, aproximadamente, 5 minutos, foi realizado o monitoramento da FC, PA batimento a batimento e respiração por 10 minutos para posterior análise da modulação autonômica cardiovascular. Em seguida, a PA auscultatória e FC foram medidas em triplicata e, logo depois, a primeira amostra de sangue foi retirada. Depois dessa coleta, foi feita a biópsia do músculo gastrocnêmio da perna mais afetada pela doença. Esse momento de medidas foi chamado de avaliação pré-exercício.

Terminadas as avaliações pré-exercício, os voluntários realizaram uma caminhada até a dor máxima de claudicação, com o mesmo protocolo de Gardner et al. (1991) utilizado no teste ergoespirométrico dos exames preliminares (velocidade de 3,2 km/h e aumento da inclinação de 2% a cada 2 min). Durante a caminhada, as variáveis cardiovasculares (FC e PA) e metabólicas (VO_2) foram medidas como no teste preliminar. O estresse fisiológico gerado pela caminhada foi analisado pelas medidas realizadas no pico do exercício e por uma coleta de sangue realizada imediatamente após o exercício, quando os indivíduos retornaram à posição supina.

Para avaliar as respostas após o exercício (avaliação pós-exercício), 20 minutos depois da finalização da caminhada máxima, uma nova coleta de dados da FC, PA batimento a batimento e respiração foi realizada para a avaliação da modulação autonômica cardiovascular e, em seguida, a PA auscultatória e a FC foram medidas em triplicada. Depois, uma terceira amostra de sangue foi coletada e, a seguir, houve uma nova biópsia do músculo gastrocnêmio da perna mais afetada.

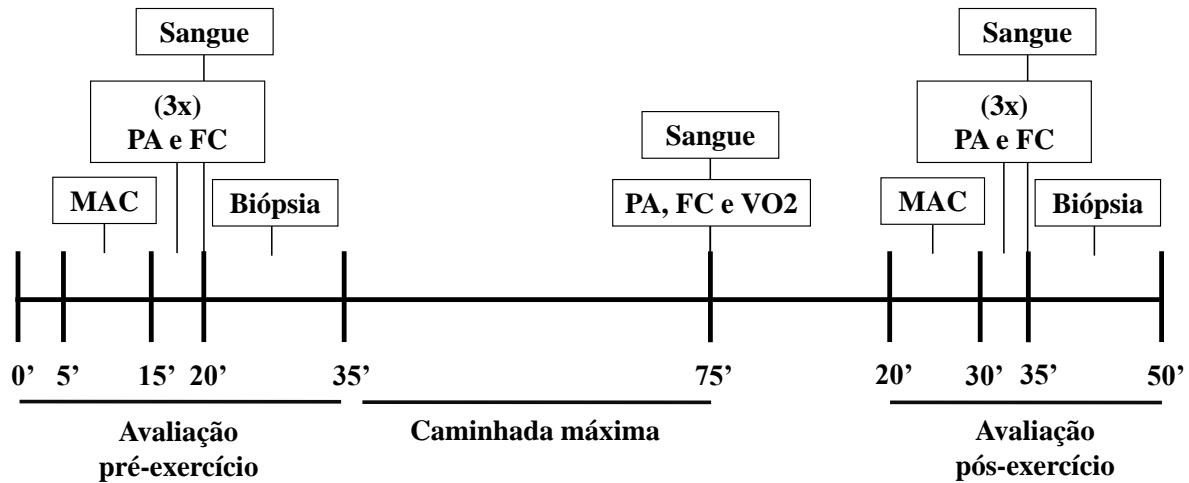


Figura 3. Protocolo experimental de exercício máximo.

MAC – Modulação autonômica cardiovascular; PA – Pressão arterial auscultatória; FC – Frequência cardíaca; VO₂ – consumo de oxigênio

4.6. Análise dos dados e análise estatística

Devido ao grande número de objetivos e variáveis estudadas, o cálculo amostral não foi feito à priori. Então, o poder das análises foi calculado à posteriori no programa de estatística G*Power 3.1.0, sendo considerada a amostra utilizada em cada análise e o erro alfa de 0,05. Esses poderes são demonstrados nas legendas das tabelas.

As análises de normalidade da distribuição e homogeneidade de variância foram realizadas por meio dos testes de *Shapiro-Wilks* e *Levene*, respectivamente.

As comparações das características dos grupos (TC e CO) no início do estudo foram feitas pelo teste *T-Student* para amostras independentes nas variáveis contínuas e pelo teste de Qui-quadrado nas categóricas.

Para a avaliação do objetivo específico 1, relacionado às respostas fisiológicas após a caminhada máxima, todos os indivíduos avaliados na sessão experimental realizada no início do estudo foram considerados como um único grupo, e as comparações foram feitas entre os valores medidos pré e pós-exercício, utilizando-se o teste *T-student* para amostras dependentes.

Para avaliar o objetivo 2, referente ao efeito do TC foi, inicialmente, demonstrada a efetividade do TC empregado, analisando-se seu efeito sobre a capacidade de caminhada (principal motivo para a utilização do TC em indivíduos com DAP e CI) através da comparação entre os valores de DIC e DTM medidas no início e no final do estudo nos grupos TC e CO. Em seguida, foi avaliado o efeito do TC nas variáveis medidas em repouso (objetivo 2a) comparando-se as medidas dessas variáveis realizadas no momento pré-exercício (portanto

repouso sem intervenção prévia) das sessões experimentais realizadas no início e no final do estudo nos grupos CO e TC. Posteriormente, para verificar o efeito do TC sobre as respostas à caminhada máxima (objetivo 2b) foram feitas várias etapas de análise: i) verificou-se o efeito do TC no estresse fisiológico promovido pela caminhada máxima, comparando-se as respostas medidas imediatamente após a caminhada máxima realizada no início e no final do estudo nos 2 grupos; ii) analisou-se o efeito do TC nas respostas à caminhada máxima (diferença pós-pré exercício: Δ pós-pré) avaliadas no início e no final do estudo nos dois grupos; iii) analisou-se o efeito do TC no valor absoluto das variáveis obtidos após a caminhada máxima no início e no final do estudo nos dois grupos. Todas essas análises foram realizadas com a ANOVA mista de 2 fatores, tendo como fator principal independente o grupo (TC e CO) e dependente a fase do estudo (início e final). Quando as ANOVAs detectaram diferenças significantes nos valores iniciais entre os grupos (i.e. FC, DP e CAT medidas pré-exercício), a análise foi refeita usando-se uma ANCOVA e considerando-se os valores iniciais como covariadas. Em todas as ANOVAs, quando foi verificada interação significante, o teste de *post-hoc* de Newman-Keuls foi usado para localizar a diferença.

O valor de $P \leq 0,05$ foi considerado como significante em todas as análises. Os dados estão apresentados em média \pm erro padrão.

5. RESULTADOS

5.1. Fluxograma da participação

O fluxograma da participação dos indivíduos no estudo está apresentado na figura 4. Foram contatados 78 homens, ≥ 50 anos, com DAP e CI para participarem deste estudo. Desse total, 16 não tiveram interesse, 5 disseram que trabalhavam e não podiam participar, 2 moravam afastados do hospital e 1 dependia de outra pessoa para participar. Assim, 54 indivíduos aceitaram participar e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esses indivíduos passaram pelos exames pré-participação e 19 foram excluídos por apresentarem os seguintes critérios de exclusão: 2 com PAS e/ou PAD acima de 160/105 mmHg; 1 com incapacidade de caminhar em esteira por mais de dois minutos; 1 com o ITB acima de 0,90; 7 que não interromperam o teste ergoespirométrico devido a dor no membro inferior e 6 com alterações no ECG que contraindicavam a prática de exercício físico. Além disso, 2 desistiram de participar por problemas pessoais. Assim, 35 indivíduos participaram da avaliação inicial do estudo e, posteriormente, foram aleatorizados para os grupos TC (n=18) e CO (n=17). Durante as intervenções, no TC, 2 indivíduos desistiram por motivos pessoais, enquanto que no CO, 1 indivíduo desistiu por motivo pessoal. Assim, 32 indivíduos realizaram a avaliação da fase final do estudo, completando integralmente o protocolo (TC = 16 e CO = 16). Por se tratar de um estudo de eficácia do treinamento, a análise foi realizada apenas com os indivíduos que completaram totalmente o estudo (MOHER; SCHULZ; ALTMAN, 2001).

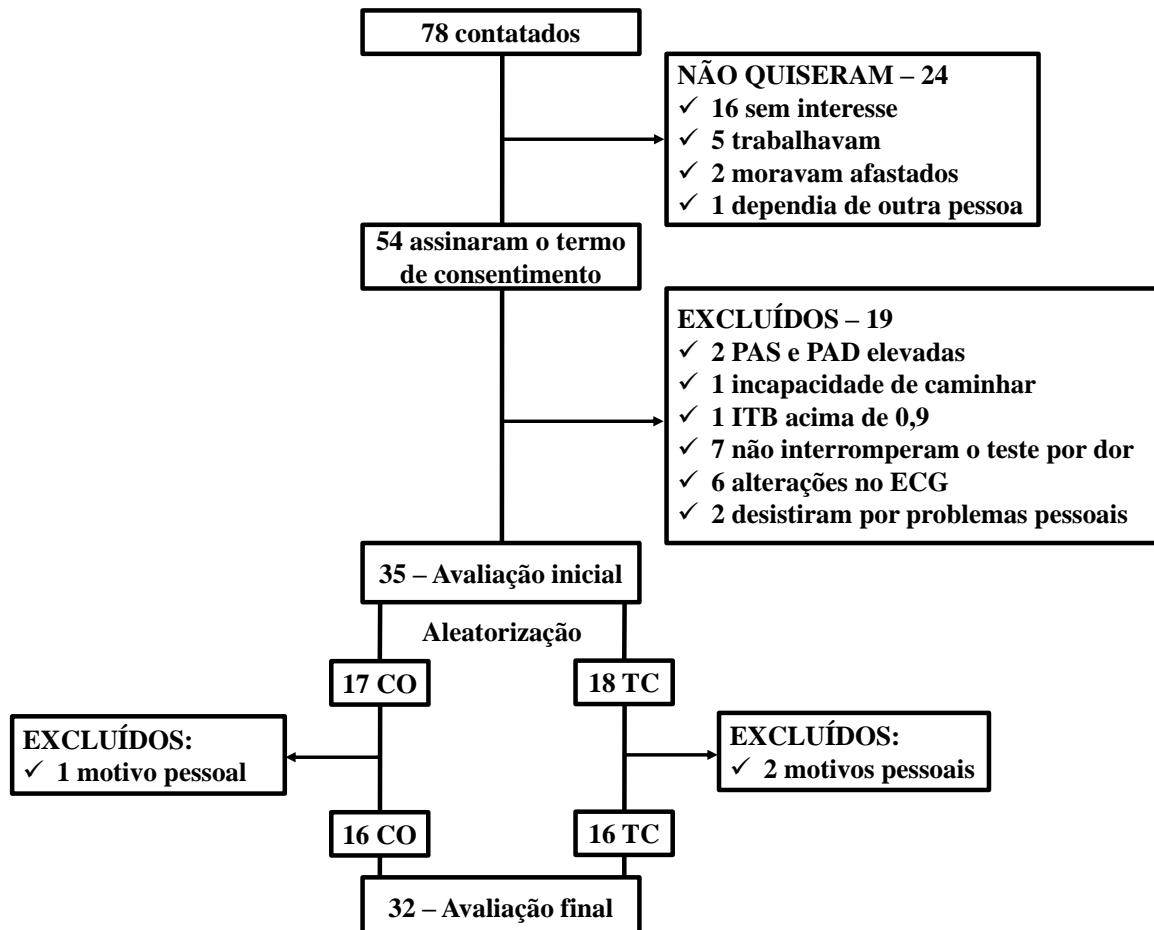


Figura 4. Seguimento da participação dos indivíduos ao longo do estudo. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; ITB – Índice tornozelo-braço; ECG – Eletrocardiograma; CO – Grupo controle; TC – Grupo treinamento de caminhada.

5.2. Características da amostra

As características iniciais dos indivíduos que completaram o estudo estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características dos indivíduos avaliadas no início do estudo. Dados demonstrados no grupo todo e dividido nos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	TODOS (n = 32)	CO (n = 16)	TC (n = 16)	P (TC vs. CO)
Idade (anos)	68 ± 2	69 ± 3	66 ± 2	0,36
ITB repouso	0,63 ± 0,02	0,62 ± 0,04	0,64 ± 0,03	0,67
DIC (m)	222 ± 16	231 ± 22	212 ± 20	0,51
DTC (m)	583 ± 53	593 ± 88	572 ± 47	0,83
Medidas Antropométricas				
Peso (kg)	71,2 ± 1,8	69,9 ± 2,6	72,4 ± 2,5	0,49
Estatura (m)	1,67 ± 0,01	1,66 ± 0,02	1,68 ± 0,02	0,46
IMC (kg/m ²)	25,6 ± 0,6	25,4 ± 0,9	25,7 ± 0,8	0,79
Medidas Cardiovasculares				
PAS (mmHg)	137 ± 3	137 ± 5	136 ± 2	0,78
PAD (mmHg)	81 ± 2	79 ± 2	83 ± 2	0,21
FC (bpm)	73 ± 2	75 ± 3	70 ± 2	0,15

Dados = Média ± erro padrão. ITB – Índice tornozelo-braço; DIC – Distância de claudicação; DTC – Distância total de caminhada; IMC – Índice de massa corporal; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; FC – Frequência cardíaca.

Todos os indivíduos apresentaram idade ≥ 50 anos, ITB $\leq 0,90$ em, pelo menos, um dos membros inferiores, IMC menor que 35 kg/m², níveis de PAS e PAD inferiores a 160/105 mmHg, respectivamente, além de capacidade de caminhada limitada no teste ergoespirométrico. Ressalta-se que não houve nenhuma diferença significante nas características analisadas no início do estudo entre os grupos TC e CO.

A prevalência dos fatores de risco cardiovascular, das comorbidades cardiovasculares e do uso de medicamentos nos indivíduos são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2. Prevalências dos fatores de risco cardiovascular, das comorbidades cardiovasculares e do uso de medicamentos nos indivíduos do grupo controle (CO) e treinamento de caminhada (TC) avaliadas no início do estudo.

	TODOS (N = 32)	CO (n = 16)	TC (n = 16)	P (CO vs. TC)
Prevalência dos FRC e comorbidades CV (%)				
Obesidade	6,2	6,2	6,2	0,99
Hipertensão arterial	71,9	75,0	68,8	0,69
Diabetes Mellitus	28,1	31,2	25,0	0,69
Dislipidemia	93,8	87,5	100,0	0,14
Tabagismo atual	31,3	25,0	37,5	0,45
Ex-tabagista	65,6	75,0	56,2	0,28
Doença arterial coronariana	18,8	18,8	18,8	0,99
Uso de medicamentos (%)				
Ácido acetilsalicílico	93,8	93,8	93,8	0,99
Estatina	90,6	87,5	100	0,14
Anti-hipertensivo	59,4	56,2	62,5	0,72
Hipoglicemiante oral	28,1	31,2	25,0	0,69

FRC – Fatores de risco cardiovascular; CV – Cardiovasculares.

Os indivíduos apresentaram diversos fatores de risco modificáveis, como: obesidade, hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemia e tabagismo atual ou progresso. Além disso, apresentaram comorbidades cardiovasculares, como a doença arterial coronariana. Em relação aos medicamentos, os indivíduos faziam, em sua maioria, uso de ácido acetilsalicílico, estatinas e anti-hipertensivos, incluindo medicamentos com ação no sistema renina-angiotensina-aldosterona, diuréticos e antagonistas dos canais de cálcio diidropiridínicos, mas não betabloqueadores nem inibidores de canais de cálcio não diidropiridínicos. Além disso, os diabéticos estavam em uso de hipoglicemiantes orais, mas não de insulina.

Ressalta-se que da mesma forma que nas variáveis descritas na tabela 1, as prevalências dos fatores de risco, das comorbidades cardiovasculares e do uso de medicamentos não diferiram significantemente entre os grupos CO e TC.

Os indivíduos diabéticos não apresentaram neuropatia autonômica cardiovascular e nenhum indivíduo apresentou cirurgia de revascularização há menos de um ano, amputação de

membros inferiores e nem arritmias complexas ou isquemia durante o teste de esforço. Além disso, os indivíduos não modificaram o tipo ou a dose das medicações ao longo do estudo.

Numa análise complementar (dados não apresentados), observou-se que todas as características analisadas nas tabelas 1 e 2 também não diferiram entre os indivíduos que foram incluídos no estudo e aqueles que foram excluídos nos exames preliminares.

5.3. Objetivo 1. Respostas agudas à caminhada máxima

As respostas agudas das variáveis marcadoras da função cardiovascular após a caminhada máxima estão apresentadas na tabela 3.

Tabela 3. Variáveis marcadoras da função cardiovascular avaliadas antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.

	Avaliação do Início do Estudo		P
	Pré-exercício	Pós-Exercício	
PAS (mmHg)	136 ± 2	142 ± 3†	0,01
PAD (mmHg)	78 ± 1	84 ± 1†	0,01
PAM (mmHg)	97 ± 1	103 ± 2†	0,01
FC (bpm)	67 ± 2	71 ± 2†	0,01
DP (mmHg*bpm)	9180 ± 261	10066 ± 330†	0,01

Dados = Média ± erro padrão. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FC – Frequência cardíaca; DP – Duplo produto.

†Diferente do pré-exercício ($P < 0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: PAS = 90%, PAD = 92%, PAM = 91%, FC = 87% e DP = 89%.

Como se observa na tabela 3, todas as variáveis analisadas aumentaram significantemente após a realização aguda da caminhada máxima em comparação ao momento pré-exercício.

As respostas agudas das variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular após a caminhada máxima estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 4. Variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular avaliadas antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.

	Avaliação do Início do Estudo		
	CO + TC (n = 32)	P	
VT _{R-R} (ms ²) (n = 29)	967 ± 174	1149 ± 230	0,34
BF _{R-R} (un) (n = 29)	47 ± 3	55 ± 4†	0,02
AF _{R-R} (un) (n = 29)	44 ± 3	36 ± 4†	0,02
BF/AF _{R-R} (n = 29)	1,4 ± 0,2	3,3 ± 0,9†	0,04
VT _{PAS} (mmHg ²) (n=28)	40,3 ± 6,4	42,8 ± 6,0	0,63
BF _{PAS} (mmHg ²) (n=28)	5,9 ± 1,9	5,2 ± 1,4	0,67
VT _{PAD} (mmHg ²) (n=28)	9,5 ± 1,6	11,8 ± 1,6	0,08
BF _{PAD} (mmHg ²) (n=28)	2,2 ± 0,7	2,6 ± 0,7	0,68
SBR (ms/mmHg) (n=28)	4,7 ± 0,6	5,0 ± 0,9	0,69

Dados = Média ± erro padrão. R-R – Intervalo R-R; VT – Variância total; BF – Banda de baixa frequência; AF – Banda de alta frequência; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; SBR – Sensibilidade barorreflexa. Como houve redução do número de indivíduos por problemas no sinal, o número analisado está exposto ao lado de cada variável.

†Diferente do pré-exercício (P<0,05). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: VT_{R-R} = 72%, AF_{R-R} = 82%, BF_{R-R} = 83%, BF/AF = 85%, VT_{PAS} = 64%, BF_{PAS} = 67%, VT_{PAD} = 69%, BF_{PAD} = 62% e SBR = 71%.

Devido à presença de artefatos no sinal não foi possível analisar a variabilidade da FC em três indivíduos e a variabilidade da PA e a SBR em quatro indivíduos. Como se observa na tabela, a banda AF_{R-R} diminuiu显著mente, enquanto que a banda BF_{R-R} e a razão BF/AF aumentaram显著mente após a caminhada máxima em comparação aos valores medidos pré-exercício. Por outro lado, as demais variáveis, VT_{R-R}, VT_{PAS}, BF_{PAS}, VT_{PAD}, BF_{PAD} e SBR não se alteraram do momento pré- para o pós-exercício.

As respostas agudas das variáveis sanguíneas marcadoras de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação após a caminhada máxima estão apresentadas na tabela 5.

Tabela 5. Marcadores sanguíneos de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.

	Avaliação do Início do Estudo		
	Pré-Exercício	Pós-Exercício	P
Função endotelial			
NO (μ M)	15,0 \pm 0,4	15,5 \pm 0,5	0,32
Estresse oxidativo			
SOD (U/ml)	2,52 \pm 0,13	2,64 \pm 0,12	0,33
CAT (nmol.min $^{-1}$.ml $^{-1}$)	13,2 \pm 2,8	10,9 \pm 2,7†	0,04
LPO (μ M)	18,2 \pm 2,9	18,1 \pm 2,3	0,97
Marcadores inflamatórios			
IL-6 (pg/ml)	4,36 \pm 0,66	6,31 \pm 1,28†	0,04
PCr (pg/ml)	1644 \pm 322	2152 \pm 352†	0,05
TNF-alfa (pg/ml)	1,09 \pm 0,70	1,17 \pm 0,60†	0,05
ICAM (ng/ml)	200 \pm 13	212 \pm 15†	0,02
VCAM (ng/ml)	549 \pm 45	587 \pm 47†	0,02

Dados = Média \pm erro padrão. NO – Óxido nítrico; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. †Diferente do pré-exercício ($P < 0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: NO = 71%, SOD = 70%, CAT = 83%, LPO = 70%, IL-6 = 89%, PCr = 83%, TNF-alfa = 81%, ICAM = 88% e VCAM = 91%.

Em comparação aos valores pré-exercício, o NO, a atividade da SOD e a LPO sanguíneas não se alteraram após o exercício. Por outro lado, a atividade da CAT diminuiu显著mente e as concentrações plasmáticas de IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM aumentaram显著mente.

As respostas agudas das variáveis musculares marcadoras de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação após a caminhada máxima estão apresentadas na tabela 6.

Tabela 6. Marcadores musculares de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados antes (pré) e após (pós) a caminhada máxima realizada no início do estudo nos indivíduos dos dois grupos (controle – CO e treinamento de caminhada – TC) considerados em conjunto.

	CO + TC (n = 32)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	P
Função endotelial			
eNOS (%)	100 ± 5	172 ± 11†	0,03
Estresse oxidativo			
SOD (U/mg)	44,6 ± 3,1	42,7 ± 3,2	0,31
CAT (abs.min ⁻¹ .mg ⁻¹)	2,3 ± 0,2	3,4 ± 0,4†	0,01
LPO (nmol/mg)	3,4 ± 0,3	4,8 ± 0,3†	0,01
Marcadores inflamatórios			
IL-6 (%)	100 ± 4	240 ± 13†	0,01
PCr (%)	100 ± 5	114 ± 6†	0,05
TNF-alfa (%)	100 ± 6	166 ± 12†	0,03
ICAM (%)	100 ± 6	187 ± 11†	0,01
VCAM (%)	100 ± 4	130 ± 7†	0,01

Dados = Média ± erro padrão. eNOS – Óxido nítrico sintase endotelial; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. †Diferente do pré-exercício (P<0,05). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: eNOS = 80%, SOD = 74%, CAT = 83%, LPO = 87%, IL-6 = 89%, PCr = 84%, TNF-alfa = 90%, ICAM = 93% e VCAM = 96%.

Como se observa na tabela, em comparação aos valores pré-exercício, a expressão gênica da eNOS no músculo aumentou显著mente pós-exercício. Da mesma forma, a atividade da CAT e a concentração de LPO no músculo também aumentaram显著mente pós-exercício em relação aos valores pré-exercício, enquanto que a atividade da SOD não se modificou. Considerando-se os marcadores inflamatórios no músculo, a expressão gênica de todos eles, IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM aumentou显著mente após a realização do exercício em comparação aos valores pré-exercício.

5.4. Objetivo 2. Efeito do treinamento de caminhada

5.4.1. Na capacidade funcional

Para avaliar a efetividade do protocolo de TC empregado, foram avaliadas as variáveis marcadoras de capacidade de caminhada dos indivíduos no início e no final do estudo, o que está apresentado na tabela 7.

Tabela 7. Variáveis marcadoras da capacidade de caminhada medidas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC)

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
DIC (m)	231 ± 16	191 ± 47	212 ± 15	372 ± 48*#
DTC (m)	593 ± 73	633 ± 75	572 ± 35	947 ± 61*#

Dados = Média ± erro padrão. DIC – distância inicial de claudicação; DTC – distância total de caminhada. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: DIC = 89% e DTC = 86%.

Como se verifica, tanto a DIC quanto a DTC aumentaram significantemente no grupo TC e se mantiveram no CO, diferindo significantemente entre os grupos no final do estudo.

5.4.2. Objetivo 2a. Na função cardiovascular, modulação autonômica cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliados em repouso

As respostas das variáveis marcadoras da função cardiovascular, modulação autonômica cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliadas em repouso no período pré-exercício das sessões experimentais realizadas no início e no final do estudo nos grupos CO e TC estão apresentadas nas tabelas 8 (função cardíaca), 9 (modulação autonômica cardíaca), 10 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 11 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo). Além disso, as variáveis que apresentaram efeito significante do TC estão também expostas nas figuras 5 (função cardíaca), 6 (modulação autonômica cardíaca), 7 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 8 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo).

Tabela 8. Variáveis marcadoras de função cardiovascular avaliadas em repouso (pré-exercício) no início e final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
PAS (mmHg)	134 ± 4	139 ± 5	136 ± 3	126 ± 3*#
PAD (mmHg)	75 ± 2	76 ± 2	79 ± 2	77 ± 2
PAM (mmHg)	95 ± 2	97 ± 3	97 ± 2	92 ± 2*#
FC (bpm)	70 ± 2	71 ± 3	65 ± 2#	61 ± 2*#
DP (mmHg*bpm)	9465 ± 356	9710 ± 512	8853 ± 357#	7748 ± 365*#

Dados = Média ± erro padrão. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FC – Frequência cardíaca; DP – Duplo produto.

*Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: PAS = 99%, PAD = 68%, PAM = 92%, FC = 83% e DP = 95%.

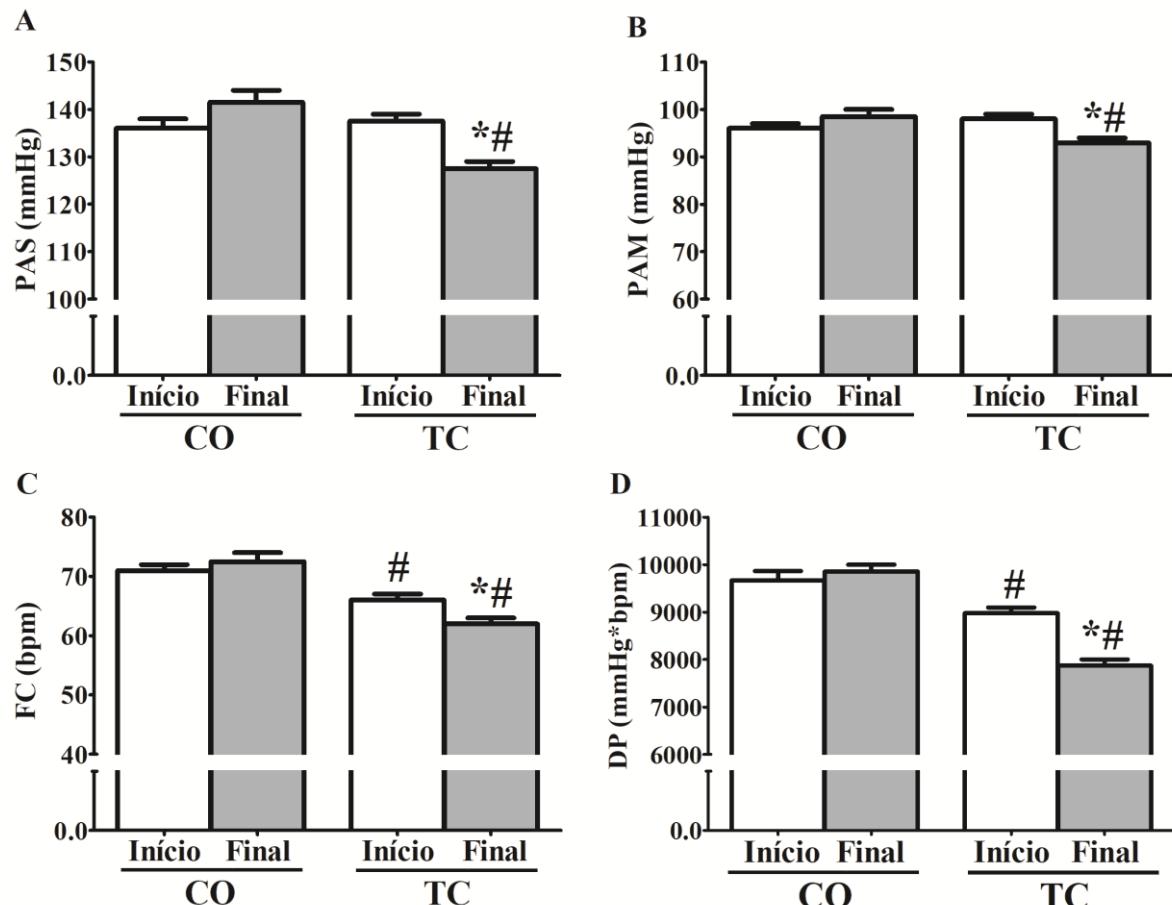


Figura 5. Pressão arterial sistólica (PAS – Painel A), pressão arterial média (PAM – Painel B), frequência cardíaca (FC – Painel C) e duplo produto (DP – Painel D) medidos em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média ± erro padrão.

Os valores de PAS, PAM, FC e DP diminuíram significantemente no grupo TC do início para o final do estudo e foram significantemente menores nesse grupo que no CO no final do estudo. Por outro lado, a PAD não diferiu entre os grupos e não se alterou em nenhum grupo ao longo do estudo. Considerando-se a FC e o DP, foram observadas diferenças significantes entre os grupos no início do estudo, porém a ANCOVA revelou que essa diferença inicial não influenciou as respostas e, por esse motivo, o resultado da ANOVA foi apresentado.

Tabela 9. Variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular avaliadas em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
VT _{R-R} (ms ²) (CO, n=14; TC, n=15)	845 ± 217	890 ± 181	1064 ± 264	1884 ± 399*#
BF _{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	42 ± 5	48 ± 6	50 ± 5	33 ± 4*#
AF _{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	46 ± 5	43 ± 6	42 ± 5	57 ± 5*#
BF/AF _{R-R} (CO, n=14; TC, n=15)	1,1 ± 0,2	1,9 ± 0,6	1,7 ± 0,4	0,7 ± 0,1*#
VT _{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	40,1 ± 9,4	49,3 ± 14,6	36,0 ± 7,6	40,7 ± 11,2
BF _{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	5,8 ± 3,0	8,8 ± 3,0	5,1 ± 2,1	7,1 ± 2,2
VT _{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	8,8 ± 2,4	11,0 ± 3,8	9,1 ± 1,8	16,9 ± 5,6
BF _{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	1,4 ± 0,6	1,9 ± 0,9	2,6 ± 1,1	3,9 ± 1,3
SBR (ms/mmHg) (CO, n=12; TC, n=15)	4,6 ± 0,9	5,8 ± 1,1	4,5 ± 0,8	8,6 ± 1,4*#

Dados = Média ± erro padrão. R-R – Intervalo R-R; VT – Variância total; BF – Banda de baixa frequência; AF – Banda de alta frequência; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; SBR – Sensibilidade barorreflexa. Quando houve redução do número de indivíduos, o número real está exposto ao lado da variável. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: VT_{R-R} = 82%, AF_{R-R} = 78%, BF_{R-R} = 80%, BF/AF = 87%, VT_{PAS} = 60%, BF_{PAS} = 52%, VT_{PAD} = 43%, BF_{PAD} = 48% e SBR = 81%.

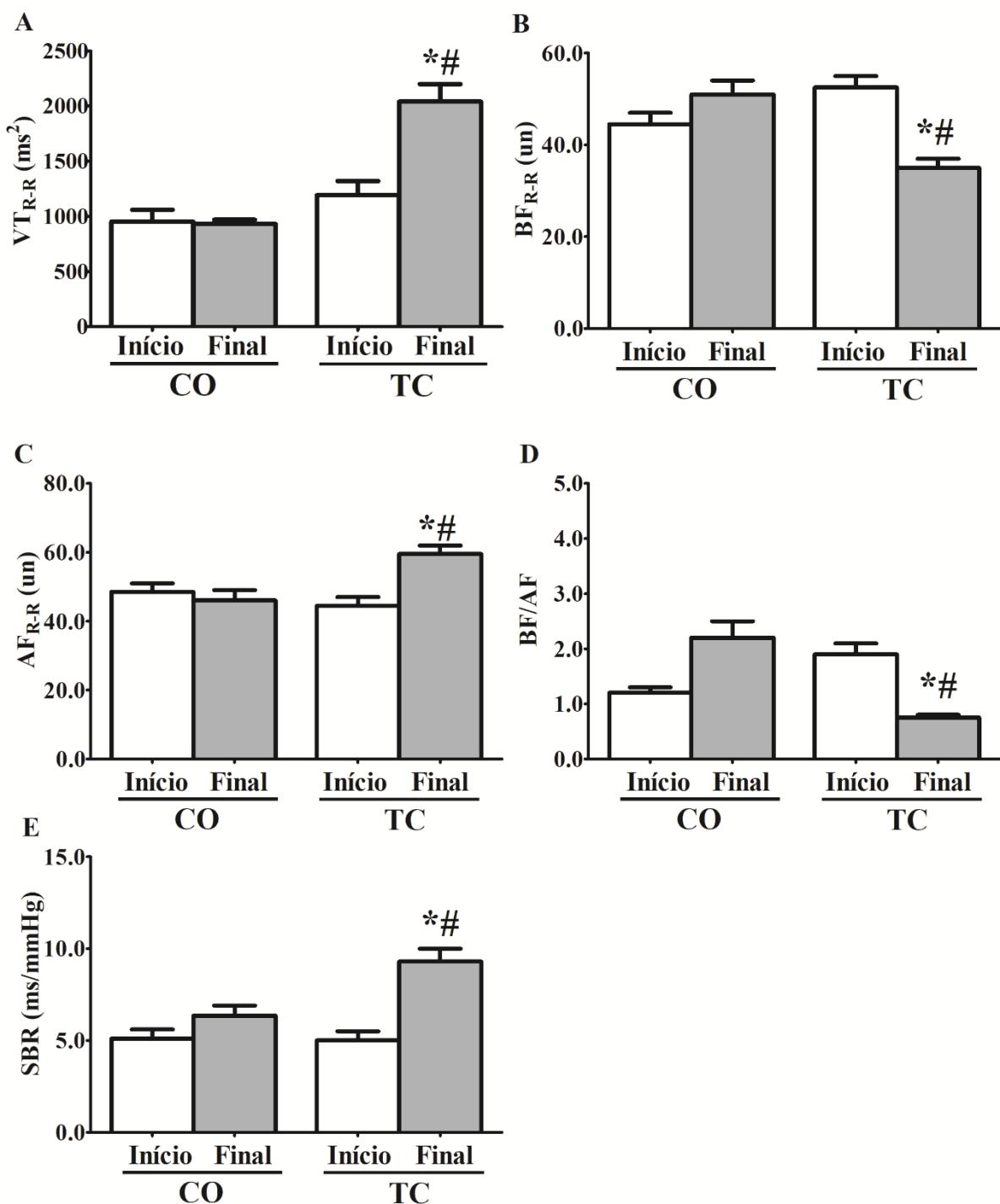


Figura 6. Variância total (VT – Painel A), banda de baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca (BF – Painel B), banda de alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca (AF – Painel C), razão entre essas bandas (BF/AF – Painel D) e sensibilidade barorreflexa (SBR – Painel E) medidas em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

Devido à presença de artefatos no sinal, não foi possível analisar a variabilidade da FC em três indivíduos (dois no CO e um do TC), a variabilidade da PA em cinco indivíduos (sendo 3 nos quais também não havia sido avaliada a variabilidade da FC e mais 2 do CO) e, portanto, a SBR nesses mesmos 5 indivíduos.

Como se observa, no grupo TC, a VT_{R-R}, a AF_{R-R} e a SBR aumentaram significantemente, enquanto que a BF_{R-R} e a BF/AF_{R-R} diminuíram significantemente do início para o final do estudo, enquanto que essas variáveis não se alteraram no grupo CO. Dessa forma, no final do estudo, essas variáveis diferiram significantemente entre os grupos. As variabilidades da PA, tanto sistólica quanto diastólica, foram semelhantes entre os grupos e não se modificaram durante o estudo em nenhum grupo.

Tabela 10. Marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no sangue em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
NO (μM)	15,6 ± 0,4	14,7 ± 0,5	14,4 ± 0,5	16,4 ± 0,9*#
Estresse oxidativo				
SOD (U/ml)	2,57 ± 0,21	2,26 ± 0,23	2,23 ± 0,27	2,65 ± 0,26*#
CAT (nmol.min ⁻¹ .ml ⁻¹)	12,2 ± 3,3	9,7 ± 2,8*	12,0 ± 3,5	14,6 ± 3,4*#
LPO (μM)	14,6 ± 3,6	20,5 ± 4,5*	16,9 ± 3,4	14,2 ± 2,7#
Marcadores inflamatórios				
IL-6 (pg/ml)	4,14 ± 0,67	4,17 ± 1,04	4,85 ± 1,12	4,55 ± 1,28
PCr (pg/ml)	1652 ± 440	1929 ± 393	1946 ± 370	1427 ± 339*#
TNF-alfa (pg/ml)	1,14 ± 0,13	1,31 ± 0,15*	1,14 ± 0,14	1,03 ± 0,12#
ICAM (ng/ml)	206 ± 21	214 ± 22	229 ± 32	196 ± 26*
VCAM (ng/ml)	608 ± 67	644 ± 70*	635 ± 89	559 ± 73*#

Dados = Média ± erro padrão. NO – Óxido nítrico; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo; #Diferente do CO na mesma fase do estudo. Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: NO = 87%, SOD = 80%, CAT = 70%, LPO = 72%, IL-6 = 50%, PCr = 85%, TNF-alfa = 75%, ICAM = 81% e VCAM = 88%.

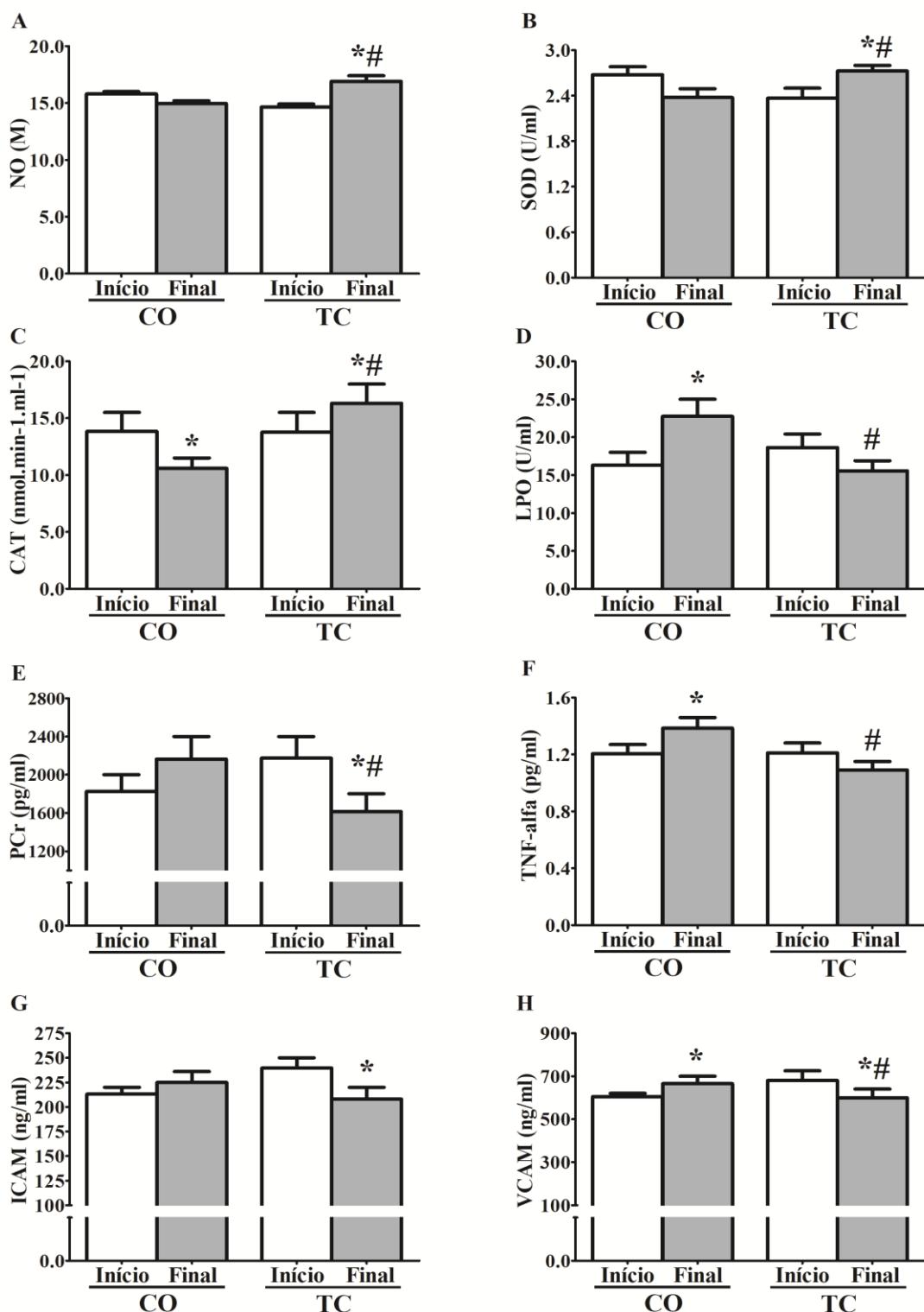


Figura 7. Óxido nítrico (NO – Painel A), superóxido dismutase (SOD – Painel B), catalase (CAT – Painel C), peroxidação lipídica (LPO – Painel D), proteína C-reativa (PCr – Painel E), fator de necrose tumoral (TNF-alfa – Painel F), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel G), molécula de adesão vascular (VCAM – Painel H) medidos no sangue em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

No grupo TC, o NO sanguíneo aumentou显著mente do início para o final do estudo e não se modificou no grupo CO, ficando显著mente maior no TC que no CO no final do estudo.

Nos marcadores de estresse oxidativo medidos no sangue, houve aumento significante da atividade da SOD e da CAT no grupo TC do início para o final do estudo, enquanto que no CO houve manutenção da atividade da SOD e redução da atividade da CAT. Assim, no final do estudo, o grupo TC apresentou maior atividade da SOD e da CAT que o grupo CO. Por sua vez, a LPO se manteve no TC e aumentou显著mente no CO do início para o final do estudo, de modo que no final do estudo, a LPO foi显著mente menor no TC que no CO.

Quanto aos marcadores inflamatórios avaliados no sangue, o IL-6 não se alterou do início para o final do estudo em ambos os grupos, em contrapartida, a PCr, o ICAM e o VCAM diminuíram显著mente no TC do início para o final do estudo, enquanto que no CO, a PCr e o ICAM não se modificaram e o VCAM aumentou. Por outro lado, o TNF-alfa aumentou no CO e não se alterou no TC ao longo do estudo. Dessa forma, no final do estudo, a PCr, o TNF-alfa e o VCAM foram显著mente menores no grupo TC comparados ao CO.

Tabela 11. Marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no músculo em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
eNOS (%)	100 ± 7	103 ± 9	105 ± 8	138 ± 11*#
Estresse oxidativo				
SOD (U/mg)	44,3 ± 4,5	42,0 ± 4,8	44,9 ± 4,4	43,5 ± 4,3
CAT (abs. \cdot min $^{-1}$.mg $^{-1}$)	2,74 ± 0,40	2,60 ± 0,30	1,72 ± 0,20#	2,62 ± 0,20*
LPO (nmol/mg)	2,99 ± 0,37	4,21 ± 0,56*	3,76 ± 0,36	3,54 ± 0,35
Marcadores inflamatórios				
IL-6 (%)	100 ± 5	98 ± 8	102 ± 7	74 ± 4*#
PCr (%)	100 ± 6	97 ± 6	112 ± 8	77 ± 6*#
TNF-alfa (%)	100 ± 7	133 ± 9*	103 ± 10	92 ± 8#
ICAM (%)	100 ± 7	153 ± 15*	99 ± 9	104 ± 8#
VCAM (%)	100 ± 6	154 ± 12*	98 ± 6	105 ± 8#

Dados = Média ± erro padrão. eNOS – Óxido nítrico sintase; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($p < 0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($p < 0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: eNOS = 89%, SOD = 42%, CAT = 68%, LPO = 63%, IL-6 = 88%, PCr = 91%, TNF-alfa = 79%, ICAM = 81% e VCAM = 80%.

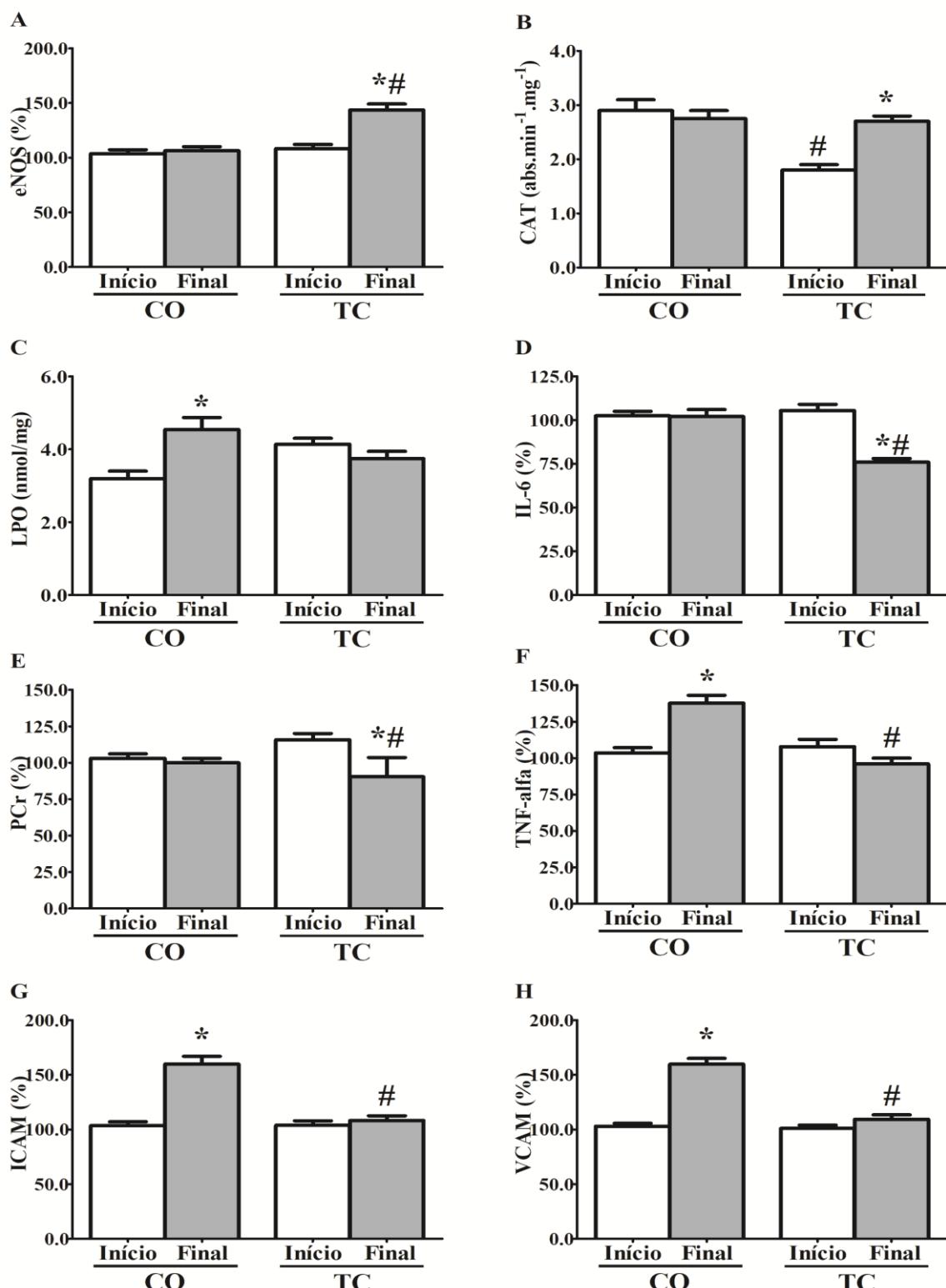


Figura 8. Óxido nítrico sintase (eNOS – Painel A), catalase (CAT – Painel B), peroxidação lipídica (LPO – Painel C), interleucina-6 (IL-6 – Painel D), proteína C-reativa (PCr – Painel E), fator de necrose tumoral (TNF-alfa – Painel F), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel G), molécula de adesão vascular (VCAM – Painel H) medidos no músculo em repouso (pré-exercício) no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

A expressão gênica da eNOS no músculo aumentou significantemente do início para o final do estudo no grupo TC e não se modificou no grupo CO, de modo que no final do estudo a expressão gênica da eNOS foi显著mente maior no grupo TC.

A atividade da SOD no músculo foi semelhante nos dois grupos e não se alterou em nenhum grupo durante o estudo. Quanto à atividade da CAT no músculo, houve diferença significante entre os grupos no início do estudo, mas a ANCOVA mostrou que essa diferença inicial não influenciou as respostas observadas. Assim, a atividade da CAT no músculo não se modificou no grupo CO e aumentou significantemente no grupo TC do início para o final do estudo, fazendo com que a atividade da CAT no músculo fosse semelhante nos dois grupos no final do estudo. Por outro lado, a LPO não se modificou no grupo TC durante o estudo, mas aumentou significantemente no grupo CO, de modo que a LPO foi significantemente menor no grupo TC que no CO no final do estudo.

Em relação à expressão gênica dos marcadores inflamatórios no músculo, a expressão da IL-6 e PCr diminuíram significantemente no TC do início para o final do estudo e se mantiveram no CO. Por outro lado, a expressão gênica do TNF-alfa, ICAM e VCAM não se modificaram no TC, mas aumentaram significantemente no CO do início para o final do estudo. Dessa forma, no final do estudo, a expressão gênica de todos esses marcadores estava significantemente menor no TC que no CO.

5.4.3. No estresse produzido pela caminhada máxima

Os estresses metabólico, cardiovascular, endotelial, oxidativo e inflamatório promovidos pela caminhada máxima (medidas realizadas no pico do esforço e imediatamente após o exercício) realizada no início e no final do estudo estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12. Estresses metabólico, cardiovascular, endotelial, oxidativo e inflamatório promovidos pela caminhada máxima realizada no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Metabólico				
VO ₂ pico (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	14,3 ± 0,8	14,0 ± 0,9	14,8 ± 0,5	15,0 ± 0,6
Cardiovasculares				
FC pico (bpm)	122 ± 4	119 ± 4	119 ± 4	121 ± 5
PAS pico (mmHg)	176 ± 6	176 ± 8	181 ± 6	178 ± 7
DP pico (bpm*mmHg)	21745 ± 1029	21234 ± 1241	21693 ± 1021	20496 ± 1419
Endotelial				
NO (μM)	15,3 ± 2,2	15,6 ± 0,9	14,8 ± 0,5	14,6 ± 0,6
Estresse oxidativo				
SOD (U/ml)	2,51 ± 0,60	2,30 ± 0,69	2,41 ± 0,18	2,17 ± 0,16
CAT (nmol.min ⁻¹ .ml ⁻¹)	19,7 ± 5,0	19,3 ± 4,9	16,6 ± 3,9	17,0 ± 4,4
LPO (μM)	23,8 ± 4,6	28,0 ± 3,7	20,0 ± 5,2	24,9 ± 6,5
Marcadores inflamatórios				
IL-6 (pg/ml)	3,25 ± 0,81	3,86 ± 0,98	3,65 ± 1,01	3,74 ± 1,03
PCr (pg/ml)	1901 ± 447	1800 ± 418	2061 ± 362	1600 ± 329
TNF-alfa (pg/ml)	1,25 ± 0,08	1,27 ± 0,09	1,10 ± 0,07	1,12 ± 0,08
ICAM (ng/ml)	233 ± 24	228 ± 27	247 ± 28	242 ± 26
VCAM (ng/ml)	667 ± 73	679 ± 75	656 ± 89	645 ± 76

Dados = Média ± erro padrão. PAS – Pressão arterial sistólica; FC – Frequência cardíaca; DP – Duplo produto; NO – Óxido nítrico; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular.

Como se observa, as variáveis marcadoras dos estresses metabólico, cardiovascular, endotelial, oxidativo e inflamatório medidas no pico e imediatamente após a caminhada máxima não apresentaram nenhuma alteração significante do início e o final do estudo em nenhum dos grupos, CO e TC.

5.4.4. Nas respostas após a caminhada máxima

5.4.4.1. Objetivo 2b1. Efeito sobre a resposta (Δ) ao exercício

As respostas das variáveis marcadoras da função cardiovascular, modulação autonômica cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação obtidas após as caminhadas máximas (Δ = Pós – Pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos dois grupos estão apresentadas nas tabelas 13 (função cardíaca), 14 (modulação autonômica cardíaca), 15 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 16 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo). Além disso, as variáveis que apresentaram efeito significante do TC estão também expostas nas figuras 9 (modulação autonômica cardíaca), 10 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 11 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo).

Tabela 13. Respostas das variáveis marcadoras da função cardiovascular avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Δ PAS (mmHg)	+5 ± 2	+7 ± 3	+5 ± 1	+6 ± 3
Δ PAD (mmHg)	+5 ± 1	+5 ± 1	+3 ± 1	+4 ± 1
Δ PAM (mmHg)	+5 ± 2	+6 ± 2	+3 ± 1	+5 ± 1
Δ FC (bpm)	+4 ± 2	+4 ± 1	+5 ± 1	+5 ± 1
Δ DP (mmHg*bpm)	+946 ± 315	+1054 ± 267	+588 ± 147	+914 ± 229

Dados = Média ± erro padrão. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FC – Frequência cardíaca; DP – Duplo produto. Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: Δ PAS = 52%, Δ PAD = 61%, Δ PAM = 60%, FC = 40% e Δ DP = 63%.

Como observado na tabela, os Δ s PAS, PAM, FC e DP após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram em nenhum grupo do início para o final do estudo.

Tabela 14. Respostas das variáveis relacionadas à modulação autonômica cardiovascular avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
ΔVT_{R-R} (ms ²) (CO, n=14; TC, n=15)	-20 ± 98	-236 ± 175	-426 ± 318	-331 ± 471
ΔBF_{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	+8 ± 5	+7 ± 8	+12 ± 4	+14 ± 4
ΔAF_{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	-11 ± 5	-6 ± 6	-10 ± 4	-17 ± 4
$\Delta BF/AF_{R-R}$ (CO, n=14; TC, n=15)	+1,2 ± 0,6	+0,6 ± 0,4	+1,2 ± 0,4	+0,9 ± 0,3
ΔVT_{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	+1,8 ± 10,0	+5,1 ± 7,1	+8,8 ± 6,4	+18,9 ± 6,9
ΔBF_{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	-1,0 ± 3,7	-4,6 ± 6,3	-1,3 ± 1,9	+6,9 ± 3,5
ΔVT_{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	+1,8 ± 2,2	+4,8 ± 4,0	+3,9 ± 2,2	+4,7 ± 2,9
ΔBF_{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	+0,4 ± 0,8	-0,9 ± 0,8	-1,1 ± 1,1	+3,2 ± 2,0
ΔSBR (ms/mmHg) (CO, n=12; TC, n=15)	-0,8 ± 1,5	-1,7 ± 1,7	+0,8 ± 1,1	-4,6 ± 1,3*

Dados = Média ± erro padrão. R-R – Intervalo R-R; VT – Variância total; BF – Banda de baixa frequência; AF – Banda de alta frequência; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; SBR – Sensibilidade barorreflexa. Quando houve redução do número de indivíduos em alguma variável, o número real analisado está exposto entre parênteses ao lado da variável. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: $\Delta VT_{R-R} = 54\%$, $\Delta AF_{R-R} = 60\%$, $\Delta BF_{R-R} = 50\%$, $\Delta BF/AF = 64\%$, $\Delta VT_{PAS} = 48\%$, $\Delta BF_{PAS} = 52\%$, $\Delta VT_{PAD} = 46\%$, $\Delta BF_{PAD} = 50\%$ e $\Delta SBR = 78\%$.

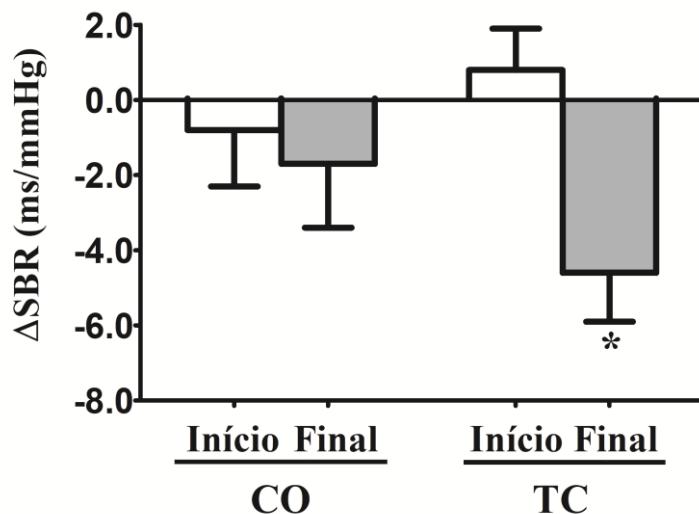


Figura 9. Respostas da sensibilidade barorreflexa (SBR) avaliada após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

Devido à presença de artefatos no sinal, não foi possível analisar a variabilidade da FC em três indivíduos (dois no CO e um do TC), a variabilidade da PA em cinco indivíduos (sendo 3 nos quais também não havia sido avaliada a variabilidade da FC e mais 2 do CO) e, portanto, a SBR nesses mesmos 5 indivíduos.

Os Δ s de todas as variáveis relacionadas à modulação autonômica cardiovascular foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram em nenhum grupo ao longo do estudo, exceto o Δ SBR, que diminuiu显著mente do início para o final do estudo apenas no grupo TC.

Tabela 15. Respostas dos marcadores sanguíneos de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC)

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
Δ NO (μ M)	-0,28 \pm 0,65	+1,76 \pm 1,05	+1,22 \pm 0,79	-2,04 \pm 0,71*#
Estresse oxidativo				
Δ SOD (U/ml)	+0,23 \pm 0,25	+0,22 \pm 0,16	+0,06 \pm 0,10	+0,11 \pm 0,13
Δ CAT ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$)	-1,39 \pm 1,89	+1,44 \pm 1,20	-1,88 \pm 1,71	-2,30 \pm 1,36
Δ LPO (μ M)	+0,31 \pm 2,96	+3,50 \pm 1,34	-0,17 \pm 2,31	-0,25 \pm 2,58
Marcadores inflamatórios				
Δ IL-6 (pg/ml)	1,99 \pm 1,69	1,38 \pm 0,86	1,65 \pm 0,73	0,81 \pm 1,30
Δ PCr (pg/ml)	+228 \pm 221	-176 \pm 76	+234 \pm 380	-55 \pm 166
Δ TNF-alfa (pg/ml)	+0,07 \pm 0,05	-0,09 \pm 0,03*	-0,04 \pm 0,06	+0,07 \pm 0,03#
Δ ICAM (ng/ml)	+14,95 \pm 7,9	+2,79 \pm 9,8	+2,56 \pm 7,6	+28,96 \pm 5,7*#
Δ VCAM (ng/ml)	+34,53 \pm 26,32	-13,85 \pm 11,40*	+14,21 \pm 21,38	+35,05 \pm 10,62#

Dados = Média \pm erro padrão. NO – Óxido nítrico; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P < 0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P < 0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: Δ NO = 84%, Δ SOD = 69%, Δ CAT = 62%, Δ LPO = 70%, Δ IL-6 = 74%, Δ PCr = 68%, Δ TNF-alfa = 79%, Δ ICAM = 83% e Δ VCAM = 76%.

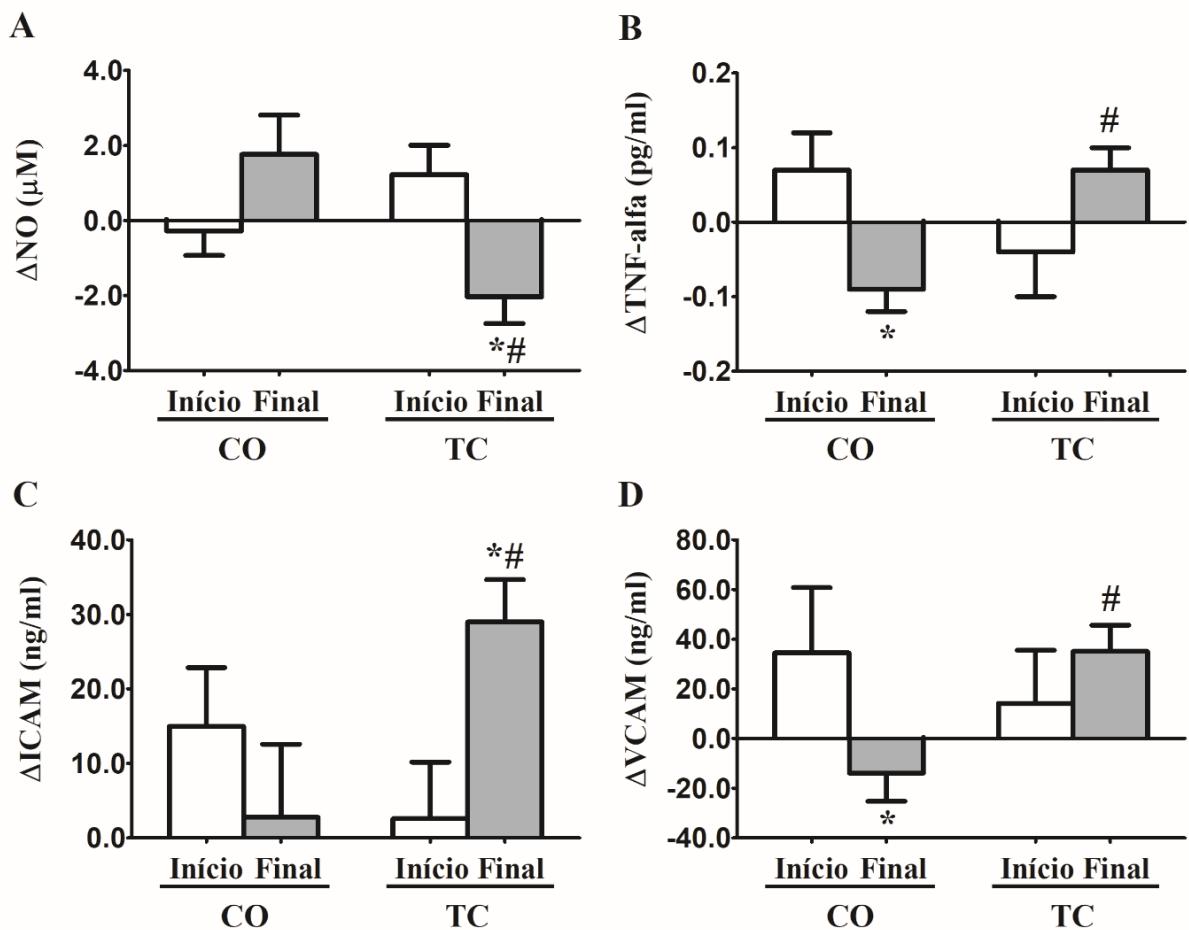


Figura 10. Respostas do óxido nítrico (NO – Painel A), fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa – Painel B), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel C) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel D) sanguíneos avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

O ΔNO após a caminhada máxima diminuiu significantemente no final do estudo em relação ao início do estudo no grupo TC e não se alterou no CO. Dessa forma, no final do estudo, o ΔNO foi significantemente menor no grupo TC que no CO.

Os Δ s dos marcadores de estresse oxidativo (atividade da SOD e da CAT e LPO) medidos no sangue após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se modificaram ao longo do estudo em nenhum grupo.

Quanto aos Δ s dos marcadores inflamatórios avaliados no sangue após a caminhada máxima, o ΔPCr foi semelhante entre os grupos e não se alterou ao longo do estudo em nenhum grupo. Porém, o ΔICAM aumentou significantemente do início para o final do estudo no grupo TC e não se modificou no grupo CO, enquanto que os Δ s TNF-alfa e VCAM não se alteraram

no grupo TC ao longo do estudo, mas diminuíram significantemente no grupo CO do início para o final do estudo. Dessa forma, no final do estudo, as respostas do TNF-alfa, ICAM e VCAM após o exercício máximo foram significantemente maiores no grupo TC que no CO. Para completar, o Δ IL-6 após a caminhada máxima foi semelhante entre os grupos e não se alterou ao longo do estudo em nenhum dos grupos.

Tabela 16. Resposta muscular dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação avaliadas após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
Δ eNOS (%)	+71,6 \pm 15,7	+88,0 \pm 12,4	+68,1 \pm 12,3	+30,2 \pm 14,6*#
Estresse oxidativo				
Δ SOD (U/mg)	-2,36 \pm 3,37	+2,17 \pm 2,90	-3,88 \pm 3,65	-2,99 \pm 4,12
Δ CAT (abs. \cdot min $^{-1}$.mg $^{-1}$)	+1,04 \pm 0,61	-0,01 \pm 0,37*	+1,08 \pm 0,32	-0,21 \pm 0,30*
Δ LPO (nmol/mg)	+1,04 \pm 0,51	-0,04 \pm 0,90*	+1,79 \pm 0,57	-0,21 \pm 0,65*
Marcadores inflamatórios				
Δ IL-6 (%)	+187,3 \pm 20,6	+134,1 \pm 15,9	+93,9 \pm 17,5#	+203,3 \pm 11,3*#
Δ PCr (%)	+23,1 \pm 10,4	-2,0 \pm 8,6	-1,0 \pm 10,4	+37,7 \pm 10,3*#
Δ TNF-alfa (%)	+92,6 \pm 20,6	+53,2 \pm 20,4	+40,9 \pm 16,1	+51,4 \pm 17,8
Δ ICAM (%)	+90,4 \pm 13,5	+79,1 \pm 14,4	+84,1 \pm 16,9	+92,9 \pm 18,6
Δ VCAM (%)	+43,5 \pm 10,2	+36,6 \pm 10,3	+17,8 \pm 8,6	+64,1 \pm 13,6*

Dados = Média \pm erro padrão. eNOS – Óxido nítrico sintase; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: Δ eNOS = 88%, Δ SOD = 50%, Δ CAT = 68%, Δ LPO = 72%, Δ IL-6 = 91%, Δ PCr = 88%, Δ TNF-alfa = 70%, Δ ICAM = 60% e Δ VCAM = 81%.

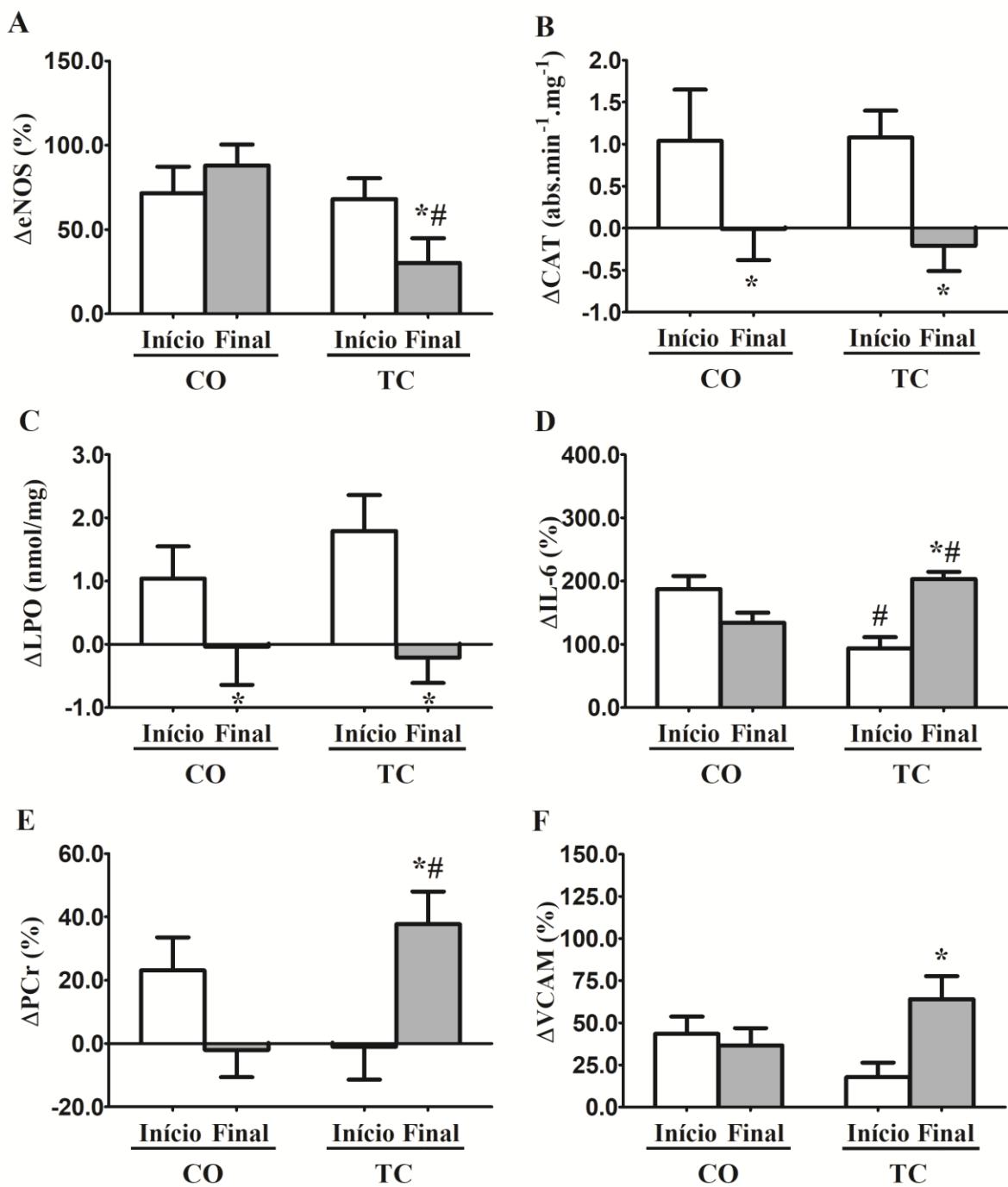


Figura 11. Respostas do óxido nítrico sintase (eNOS – Painel A), catalase (CAT – Painel B), peroxidação lípica (LPO – Painel C), interleucina-6 (IL-6 – Painel D), proteína C-reativa (PCr – Painel E) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel F) obtidas no músculo após as caminhadas máximas (Δ = diferença dos valores pós - pré-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos do grupo controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

O Δ da expressão gênica da eNOS muscular após a realização da caminhada máxima diminuiu significantemente no grupo TC do início para o final o estudo e não se modificou no

grupo CO, de modo que no final do estudo, essa resposta foi显著mente menor no grupo TC.

Quanto aos marcadores de estresse oxidativo, o Δ SOD muscular após a caminhada máxima foi semelhante entre os grupos e não se alterou ao longo do estudo em nenhum grupo. Por outro lado, os Δ s da CAT e LPO musculares diminuíram similar e显著mente nos grupos CO e TC do início para o final do estudo. Dessa forma, no final do estudo, os Δ s desses marcadores após o exercício máximo foi semelhante entre os grupos.

Considerando-se os Δ s dos marcadores inflamatórios avaliados no músculo após a caminhada máxima, os Δ s da expressão gênica da IL-6, PCr e VCAM aumentaram显著mente do início para o final do estudo no grupo TC e não se modificaram no grupo CO. Assim, no final do estudo, o Δ IL-6 e Δ PCr foram显著mente maiores no grupo TC que no CO e o Δ VCAM não diferiu entre os grupos nessa fase do estudo. Para completar, os Δ s da expressão gênica do TNF-alfa e do ICAM após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram ao longo do estudo em nenhum dos grupos.

5.4.4.2. Objetivo 2b2. Efeito sobre os valores absolutos obtidos pós-exercício

Os valores das variáveis marcadoras da função cardiovascular, modulação autonômica cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos após as caminhadas máximas (valor absoluto pós-exercício) realizadas no início e no final do estudo nos dois grupos estão apresentados nas tabelas 17 (função cardíaca), 18 (modulação autonômica cardíaca), 19 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 20 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo). Além disso, as variáveis que apresentaram efeito significante do TC estão também expostas nas figuras 12 (função cardiovascular), 13 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no sangue) e 14 (marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação no músculo).

Tabela 17. Valores das variáveis marcadoras de função cardiovascular medidos após as caminhadas máximas realizadas no início e final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
PAS (mmHg)	140 ± 5	147 ± 7	141 ± 3	133 ± 4*#
PAD (mmHg)	81 ± 2	81 ± 2	84 ± 1	79 ± 2*
PAM (mmHg)	100 ± 3	103 ± 3	104 ± 2	98 ± 3*#
FC (bpm)	75 ± 3	74 ± 3	66 ± 2#	65 ± 2#
DP (mmHg*bpm)	10644 ± 542	10846 ± 646	9366 ± 312#	8670 ± 458*#

Dados = Média ± erro padrão. PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FC – Frequência cardíaca; DP – Duplo produto.

*Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: PAS = 88%, PAD = 79%, PAM = 92%, FC = 86% e DP = 81%.

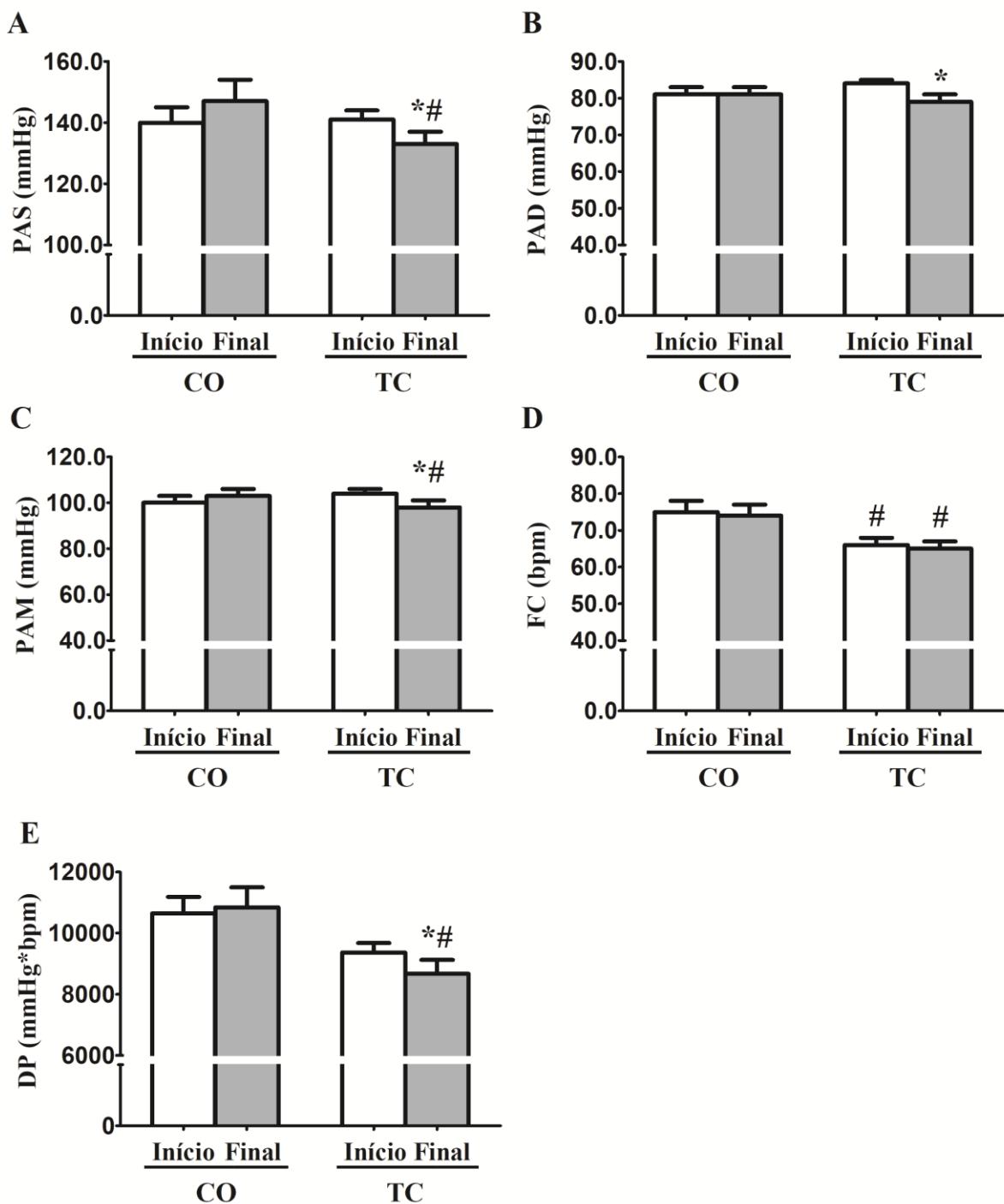


Figura 12. Pressão arterial sistólica (PAS – Painel A), pressão arterial diastólica (PAD – Painel B), pressão arterial média (PAM – Painel C), frequência cardíaca (FC – Painel D) e duplo produto (DP – Painel E) medidos após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

Os valores pós-exercício de PAS, PAD, PAM e DP diminuíram significantemente no grupo TC do início para o final do estudo e a PAS, PAM e DP foram significantemente menores nesse grupo que no CO nessa fase do estudo. A FC não se alterou em nenhum grupo do início para o final do estudo e foi significantemente menor no grupo TC que no CO tanto no início quanto no final do estudo. Considerando-se a FC e o DP, foram observadas diferenças significantes entre os grupos no início do estudo, porém a ANCOVA revelou que essas diferenças iniciais não influenciaram as respostas e, por esse motivo, o resultado da ANOVA foi apresentado.

Tabela 18. Valores das variáveis marcadoras da modulação autonômica cardiovascular medidas após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 14)		TC (n = 15)	
	Início	Final	Início	Final
VT _{R-R} (ms ²) (CO, n=14; TC, n=15)	1000 ± 334	1023 ± 370	1490 ± 362	1337 ± 188
BF _{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	50 ± 5	53 ± 6	60 ± 6	61 ± 6
AF _{R-R} (un) (CO, n=14; TC, n=15)	36 ± 5	37 ± 5	35 ± 6	30 ± 5
BF/AF _{R-R} (CO, n=14; TC, n=15)	2,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3	4,1 ± 1,6	5,5 ± 2,5
VT _{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	39,3 ± 8,0	42,3 ± 11,1	44,9 ± 10,0	68,8 ± 10,5
BF _{PAS} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	6,7 ± 2,3	7,1 ± 2,9	4,1 ± 1,2	13,8 ± 4,7
VT _{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	13,1 ± 2,5	16,0 ± 4,6	10,3 ± 2,6	16,0 ± 3,0
BF _{PAD} (mmHg ²) (CO, n=12; TC, n=15)	2,9 ± 1,3	1,2 ± 0,6	1,8 ± 0,7	0,7 ± 1,8
SBR (ms/mmHg) (CO, n=12; TC, n=15)	4,8 ± 1,3	4,3 ± 1,1	5,3 ± 1,1	4,4 ± 0,8

Dados = Média ± erro padrão. R-R – Intervalo R-R; VT – Variância total; BF – Banda de baixa frequência; AF – Banda de alta frequência; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; SBR – Sensibilidade barorreflexa. Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: VT_{R-R} = 65%, AF_{R-R} = 64%, BF_{R-R} = 53%, BF/AF = 67%, VT_{PAS} = 56%, BF_{PAS} = 51%, VT_{PAD} = 52%, BF_{PAD} = 60% e SBR = 72%.

Devido à presença de artefatos no sinal, não foi possível analisar a variabilidade da FC em três indivíduos (dois no CO e um do TC), a variabilidade da PA em cinco indivíduos (sendo 3 nos quais também não havia sido avaliada a variabilidade da FC e mais 2 do CO) e, portanto, a SBR nesses mesmos 5 indivíduos.

Os valores pós-exercício de todas as variáveis relacionadas à modulação autonômica cardiovascular foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram em nenhum grupo ao longo do estudo.

Tabela 19. Valores dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no sangue após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
NO (μM)	15,6 ± 0,9	14,4 ± 0,4	15,6 ± 0,8	15,5 ± 0,6
Estresse oxidativo				
SOD (U/ml)	2,91 ± 0,29	2,53 ± 0,21	2,72 ± 0,27	2,41 ± 0,16
CAT (nmol.min ⁻¹ .ml ⁻¹)	12,7 ± 4,0	13,8 ± 3,4	10,9 ± 4,1	11,8 ± 3,0
LPO (μM)	16,6 ± 3,3	27,4 ± 5,1*	17,1 ± 3,5	15,3 ± 3,6#
Marcadores inflamatórios				
IL-6 (pg/ml)	5,79 ± 0,93	5,35 ± 1,17	6,84 ± 2,43	5,93 ± 1,56
PCr (pg/ml)	2006 ± 420	1827 ± 199	2202 ± 491	1505 ± 312
TNF-alfa (pg/ml)	1,21 ± 0,09	1,23 ± 0,09	1,08 ± 0,06	1,05 ± 0,09
ICAM (ng/ml)	211 ± 24	218 ± 26	231 ± 29	225 ± 29
VCAM (ng/ml)	643 ± 65	635 ± 66	622 ± 78	590 ± 73

Dados = Média ± erro padrão. NO – Óxido nítrico; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo; #Diferente do CO na mesma fase do estudo. Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: NO = 68%, SOD = 67%, CAT = 76%, LPO = 80%, IL-6 = 71%, PCr = 77%, TNF-alfa = 67%, ICAM = 73% e VCAM = 72%.

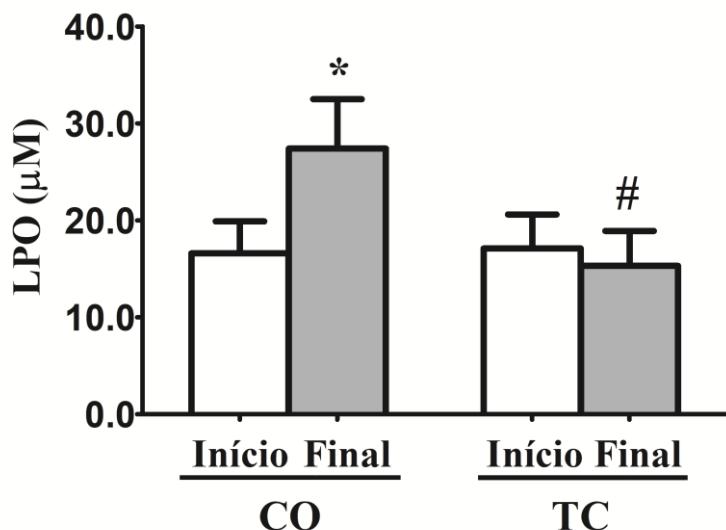


Figura 13. Peroxidação lipídica (LPO) medida no sangue após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

O NO medido no sangue após a caminhada máxima foi semelhante entre os grupos e não se modificou ao longo do estudo em nenhum grupo.

Nos marcadores de estresse oxidativo medidos no sangue após a caminhada máxima, apenas a LPO aumentou显著mente do início para o final do estudo no grupo CO e não se modificou no grupo TC. Dessa forma, no final do estudo, a LPO medida após o exercício máximo foi显著mente menor no grupo TC que no CO. Nas demais variáveis, SOD e CAT, os valores pós-exercício foram semelhantes entre os grupos e não se modificaram ao longo do estudo em nenhum grupo.

Quanto aos marcadores inflamatórios (IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM), os valores avaliados no sangue após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram ao longo do estudo em nenhum dos grupos.

Tabela 20. Valores dos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos no músculo após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC).

	CO (n = 16)		TC (n = 16)	
	Início	Final	Início	Final
Função endotelial				
eNOS (%)	181 ± 17	188 ± 17	170 ± 14	173 ± 14
Estresse oxidativo				
SOD (U/mg)	41,9 ± 4,4	44,2 ± 3,9	43,7 ± 4,1	40,3 ± 5,3
CAT (abs. \cdot min $^{-1}$.mg $^{-1}$)	3,30 ± 1,50	2,70 ± 1,20	2,99 ± 1,52	2,37 ± 1,24
LPO (nmol/mg)	4,26 ± 0,55	4,52 ± 0,74	5,26 ± 0,47	4,30 ± 0,85
Marcadores inflamatórios				
IL-6 (%)	287 ± 16	244 ± 14	194 ± 15#	267 ± 15*
PCr (%)	124 ± 10	93 ± 7	112 ± 8	110 ± 9
TNF-alfa (%)	186 ± 19	170 ± 15	148 ± 11	149 ± 18
ICAM (%)	190 ± 14	231 ± 16*	184 ± 19	195 ± 17*
VCAM (%)	139 ± 8	192 ± 14*	117 ± 9	150 ± 10*#

Dados = Média ± erro padrão. eNOS – Óxido nítrico sintase; SOD – Superóxido dismutase; CAT – Catalase; LPO – Peroxidação lipídica; IL-6 – Interleucina-6; PCr – Proteína C-reativa; TNF-alfa – Fator de necrose tumoral; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VCAM – Molécula de adesão vascular. *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($p < 0,05$); #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($p < 0,05$). Os poderes estatísticos (erros β) calculados para essas análises foram: eNOS = 73%, SOD = 68%, CAT = 67%, LPO = 70%, IL-6 = 81%, PCr = 70%, TNF-alfa = 73%, ICAM = 82% e VCAM = 88%.

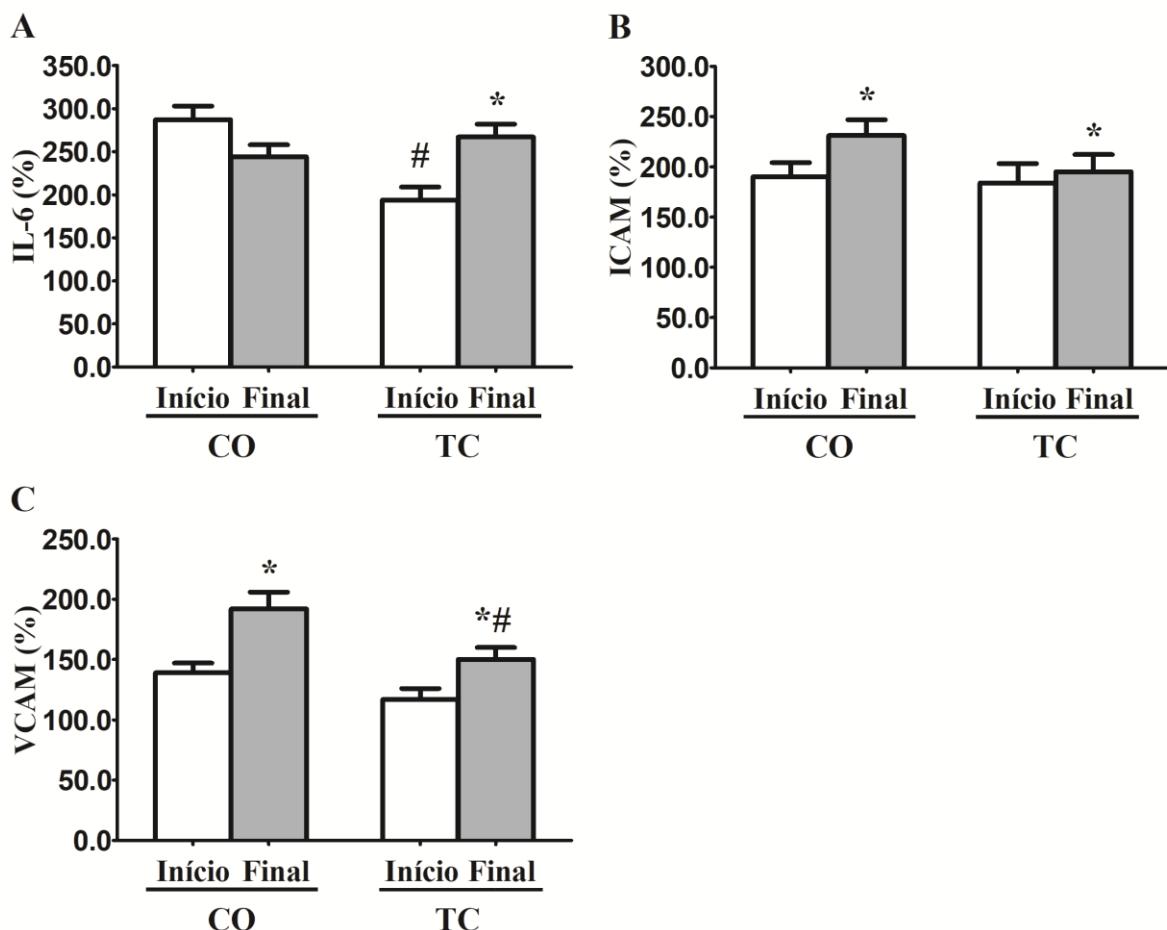


Figura 14. Interleucina-6 (IL-6 – Painel A), molécula de adesão intercelular (ICAM – Painel B) e molécula de adesão vascular (VCAM – Painel C) obtidas no músculo após as caminhadas máximas realizadas no início e no final do estudo nos indivíduos dos grupos controle (CO) e treinamento de caminhada (TC). *Diferente do início do estudo no mesmo grupo ($P<0,05$). #Diferente do CO na mesma fase do estudo ($P<0,05$). Dados = Média \pm erro padrão.

A expressão gênica da eNOS e dos marcadores de estresse oxidativo (SOD, CAT e LPO) no músculo após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se modificaram ao longo do estudo em nenhum grupo.

Considerando-se os marcadores inflamatórios avaliados no músculo após a caminhada máxima, a expressão gênica da IL-6, ICAM e VCAM aumentaram significantemente do início para o final do estudo no grupo TC e o ICAM e o VCAM aumentaram significantemente também no grupo CO. No final do estudo, apenas o VCAM foi significantemente menor no grupo TC que no CO. A expressão gênica da IL-6 e ICAM não diferiram entre os grupos nessa fase do estudo. Para completar, a expressão gênica do PCr e TNF-alfa após a caminhada máxima foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram ao longo do estudo em nenhum dos grupos. Ressalta-se que na IL-6, foi observada diferença

significante entre os grupos no início do estudo, porém a ANCOVA revelou que essa diferença inicial não influenciou a resposta e, por esse motivo, o resultado da ANOVA foi apresentado.

6. DISCUSSÃO

Os principais resultados desse estudo foram:

- 1) Em relação ao objetivo 1 - Agudamente, a realização de uma caminhada máxima promoveu:
 - aumento da sobrecarga cardiovascular pós-exercício, caracterizada por aumento da PA, FC e DP;
 - modificação da modulação autonômica cardiovascular pós-exercício no sentido de maior modulação simpática e menor parassimpática, caracterizada por aumento da BF_{R-R} e BF/AF e redução da AF_{R-R} , sem modificação da VPA e da SBR;
 - manutenção da biodisponibilidade de NO sistêmica e aumento dessa biodisponibilidade local pós-exercício, caracterizadas pela manutenção do NO sanguíneo e aumento da expressão da eNOS muscular;
 - redução da defesa antioxidant e manutenção do estresse oxidativo sistêmicos pós-exercício concomitantes ao aumento da defesa antioxidant e do estresse oxidativo locais pós-exercício, caracterizados pela diminuição da atividade da CAT e manutenção da LPO sanguínea concomitante ao aumento da atividade da CAT e da LPO musculares.
 - aumento da inflamação sistêmica e local pós-exercício, caracterizada pelo aumento de todos os marcadores inflamatórios analisados (IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM) tanto no sangue quanto no músculo.
- 2) Em relação ao objetivo 2 - A realização de 12 semanas de TC nos indivíduos com CI, promoveu:
 - 2.1) Objetivo 2a - no repouso:
 - redução da sobrecarga cardiovascular, caracterizada pela diminuição da PAS, PAM, FC e DP;
 - melhora da modulação autonômica cardiovascular no sentido de redução da modulação simpática e aumento da parassimpática, caracterizadas por aumento da VT_{R-R} , AF_{R-R} e SBR, concomitante à redução da BF_{R-R} e BF/AF;

- manutenção da modulação simpática vasomotora, caracterizada pela ausência de modificação da VPA;
- aumento das biodisponibilidades de NO sistêmica e local, caracterizadas pelo aumento do NO sanguíneo e da expressão gênica da eNOS no músculo;
- aumento da defesa antioxidante e impedimento do aumento do estresse oxidativo tanto sistêmicos quanto locais, caracterizados por aumento da atividade da SOD e da CAT no sangue bem como da CAT no músculo e impedimento do aumento da LPO observado no grupo CO tanto no sangue quanto no músculo.
- melhora do perfil inflamatório sistêmico e local, caracterizado pela redução da PCr, ICAM e VCAM no sangue bem como da IL-6 e PCr musculares, além do impedimento do aumento observado no grupo CO do TNF-alfa no sangue e do TNF-alfa, ICAM e VCAM no músculo.

2.2) Objetivo 2b – Em resposta a uma caminhada máxima

- manutenção da resposta da sobrecarga cardiovascular ao exercício com redução da sobrecarga absoluta pós-exercício, caracterizadas por manutenção dos Δ s da PA, FC e DP pós-exercício e redução dos valores da PAS, PAM e DP pós-exercício;
- manutenção da resposta e da modulação autonômica cardiovascular pós-exercício, caracterizadas por manutenção dos Δ s e dos valores absolutos de todas as variáveis derivadas da variabilidade da FC e da PA pós-exercício;
- redução da resposta da SBR ao exercício com manutenção de seu valor absoluto pós-exercício;
- diminuição da resposta do NO sanguíneo e da eNOS muscular ao exercício sem alteração dos valores absolutos dessas variáveis pós-exercício;
- manutenção da resposta e da capacidade antioxidante sistêmica e local pós-exercício, caracterizadas pela ausência de alterações significantes nos Δ s e nos valores absolutos da CAT e SOD medidas no sangue e no músculo.
- manutenção da resposta de estresse oxidativo sistêmico e local ao exercício com impedimento do aumento do estresse oxidativo sistêmico pós-exercício e manutenção do estresse oxidativo local, caracterizados por manutenção dos Δ s da LPO ao exercício medidos no sangue e no músculo, impedimento do aumento

da LPO sanguínea pós-exercício observado no grupo CO e manutenção da LPO pós-exercício no músculo.

- aumento da resposta inflamatória sistêmica e local ao exercício com manutenção da inflamação sistêmica pós-exercício e redução da inflamação local pós-exercício, caracterizados por aumento do Δ pós-exercício do TNF-alfa, ICAM e VCAM medidos no sangue e da IL-6, PCr e VCAM medidos no músculo com manutenção do valor absoluto de todos marcadores inflamatórios medidos no sangue e redução do valor absoluto da expressão gênica do VCAM medida no músculo.

6.1. Características da amostra

A maioria dos indivíduos estudados eram idosos (78,1%) e todos tinham obstrução de grau leve à moderado na perna mais afetada pela doença (ITB entre 0,45 e 0,90). Essas características estão de acordo com as características esperadas nessa população, visto que os estudos mostram aumento da prevalência da DAP em idosos e sugerem que a maioria dos indivíduos com essa doença que apresentam a CI estão no estágio leve ou moderado da doença (HIRSCH et al., 2001; HIRSCH et al., 2006). Além disso, a limitação funcional observada nesses indivíduos ($DIC = 222 \pm 16$ m e $DTM = 583 \pm 53$ m) é semelhante à relatada em estudos anteriores (CARTER et al., 1989; MENESES et al., 2011; ANDRADE LIMA et al., 2013; VAN SCHAARDENBURGH et al., 2017). Dessa forma, a amostra selecionada apresentou características clínicas semelhantes à população com DAP e CI investigada em outros estudos.

Todos os indivíduos estudados apresentavam, pelo menos, dois fatores de risco modificáveis, o que era esperado visto que nos estudos epidemiológicos (SELVIN; ERLINGER, 2004; CARBAYO et al., 2007) e no anterior do nosso grupo (CHEHUEN et al., 2017), mais de 90% dos indivíduos apresentaram fatores de risco modificáveis. Além disso, no presente estudo, as prevalências de obesidade (6,2%), hipertensão arterial (71,9%) e diabetes mellitus (28,1%) foram levemente inferiores às observadas em um levantamento mundial com essa população (BHATT et al., 2006), que relatou prevalências de obesidade (17%), hipertensão arterial (81%) e diabetes (44%), enquanto que as prevalências de dislipidemia (93,8%) e tabagismo atual (31,3%) no presente estudo foram superiores as prevalências de dislipidemia (67%) e tabagismo atual (25%) no mesmo levantamento mundial. Porém, em comparação a outro estudo do nosso grupo (CHEHUEN et al., 2017), as prevalências foram similares ao

presente estudo, com hipertensão arterial (73%), diabetes mellitus (26%), dislipidemia (95%) e tabagismo atual (33%) em indivíduos com CI. De modo que as diferenças observadas em relação ao levantamento mundial, possivelmente, se devem às características da população de São Paulo e, mais especificamente, da população atendida no serviço público de assistência à saúde nessa cidade, uma vez que os indivíduos foram recrutados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Em relação ao uso de medicamentos, como determinado pelas diretrizes de tratamento dessa doença (GERHARD-HERMAN et al., 2017), todos os indivíduos estavam recebendo medicamentos para o controle dos fatores de risco. As prevalências da utilização do ácido acetilsalicílico (93,8%) e estatinas (90,6%) foram maiores quando comparadas às relatadas em um estudo anterior (BHATT et al., 2006), que observou o uso desses medicamentos em 82 e 70% dos indivíduos, respectivamente. Essa diferença pode ser explicada pela maior ênfase e crescente uso desses medicamentos para o tratamento da DAP ao longo dos últimos anos (HIRSCH et al., 2006; NORGRREN et al., 2007). Em contrapartida, as prevalências de uso dos anti-hipertensivos (59,4%) e hipoglicemiantes orais (28,1%) foram menores que no estudo citado anteriormente (BHATT et al., 2006), que relatou prevalências de 92 e 86%, respectivamente. Provavelmente, essa diferença pode ser explicada pelos critérios de inclusão utilizados no presente estudo, i.e. exclusão de indivíduos em uso de betabloqueadores e bloqueadores de canais de cálcio não-diidropiridínicos, bem como, indivíduos diabéticos com neuropatia autonômica cardiovascular. Ressalta-se, no entanto, que esses critérios foram adotados devido ao fato do uso de medicamentos que bloqueiam a resposta da FC impedirem a avaliação precisa da VFC (LURJE et al., 1997) e o uso de insulina impor dificuldades na execução do treinamento e das avaliações com o exercício pela maior chance de ocorrência de hipoglicemias (ZAHARIEVA; RIDDELL, 2017). Cabe ressaltar ainda que apesar do menor uso de anti-hipertensivos e da exclusão dos medicamentos supracitados, a maioria (62,5%) dos indivíduos incluídos no estudo estavam com valores de PAS e PAD abaixo de 140/90 mmHg, possuindo, portanto, um controle adequado da PA de acordo com as diretrizes de tratamento da hipertensão arterial (DEPARTAMENTO DE ATROSCLEROSE DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Tomados em conjunto e resguardando-se os critérios do presente estudo, todos os fatores descritos anteriormente demonstram que, de modo geral, os indivíduos incluídos apresentaram características semelhantes às relatadas em outros estudos e à população de indivíduos com DAP e CI.

6.2. Efetividade do protocolo de treinamento de caminhada

O treinamento supervisionado de caminhada é a forma inicial e preferencial de tratamento para indivíduos com DAP e sintomas de CI (GERHARD-HERMAN et al., 2017), pois existem inúmeras evidências da efetividade desse tipo de treinamento na melhora da capacidade de caminhada desses indivíduos (GARDNER; POEHLMAN, 1995). No entanto, diferentes protocolos de treinamento têm sido utilizados nos indivíduos com CI e muitos deles baseiam a duração e intensidade das séries de caminhada na dor de claudicação referida pelo indivíduo (GARDNER et al., 2002; GARDNER et al., 2004). Diferentemente desses estudos, a presente tese optou por utilizar um protocolo (CUCATO et al., 2013), que foi desenvolvido em nosso laboratório e se baseia na prescrição da intensidade do exercício com base na FC do limiar de dor avaliado durante um teste de esforço máximo seguindo o protocolo de GARDNER et al. (1991). Em um estudo anterior (CUCATO et al., 2013), demostramos que esse protocolo de TC produz uma intensidade acima do limiar anaeróbio, que corresponde a, aproximadamente, 80% da FC e do VO₂ Pico e provoca uma sensação de dor considerada tolerável. Além disso, num outro estudo (CHEHUEEN et al., 2017), verificamos que esse protocolo foi capaz de aumentar a DIC e DTC dos indivíduos com DAP e CI em cerca de 35,9 e 47,3%, respectivamente.

Em conformidade com os resultados de nosso estudo anterior (CHEHUEEN et al., 2017), na presente investigação, o TC também promoveu aumentos da DIC e DTC, mas os incrementos foram maiores, na ordem de 160 ± 41 e 375 ± 56 m, que representaram, respectivamente, 75,5 e 65,5% de aumento. É interessante notar, que os incrementos observados do presente estudo estão dentro da faixa de variação observada em uma meta-análise sobre esse assunto, que revelou aumentos entre 72 e 497% na DIC e 25 e 200% na DTC após um período de TC (GARDNER; POEHLMAN, 1995). As diferenças nos incrementos da DIC e DTC com o TC observados entre os estudos podem estar relacionadas às características dos participantes. Indivíduos com maiores níveis iniciais de capacidade de caminhada, mais velhos, que não fumam e que têm menor IMC apresentam maiores incrementos nessas variáveis após um período de treinamento (GARDNER; POEHLMAN, 1995; KRUIDENIER et al., 2009). Outra possível explicação pode estar relacionada aos diferentes protocolos empregados nos estudos. De fato, um estudo anterior (GARDNER; POEHLMAN, 1995) observou que os aumentos da DIC e DTC foram independentemente relacionados a alguns componentes do TC, entre eles, maiores níveis de sintoma de CI (dor máxima) durante a realização do exercício e maior duração do programa de treinamento (24 semanas). Entretanto, é importante destacar que o presente

estudo mesmo utilizando um treinamento de 12 semanas, o que produziu sintoma moderado de dor, foi eficaz em aumentar a capacidade de caminhada dos indivíduos com DAP e CI, o que demonstra sua efetividade.

6.3. Objetivo 1. Efeito de uma caminhada máxima nas respostas hemodinâmicas, autonômicas, de função endotelial, inflamatórias e de estresse oxidativo.

O presente estudo demonstrou que uma sessão de caminhada realizada até a dor máxima de claudicação produziu aumento significante da FC, PA e DP após sua realização em comparação aos valores medidos antes do exercício. Assim, o exercício de caminhada realizado até a dor máxima não proporcionou efeito hipotensor agudo pós-exercício e aumentou o trabalho cardíaco nos indivíduos com DAP e CI.

O aumento da FC após a caminhada máxima em comparação aos valores pré-exercício pode ser explicado devido à alteração da modulação autonômica cardíaca observada após o exercício, que apresentou um padrão sugestivo de maior predomínio simpático. Essa alteração autonômica foi evidenciada pela redução da banda AF_{R-R}, que representa a modulação parassimpática cardíaca, e aumento da banda BF e da razão BF/AF, que representam, respectivamente, a modulação simpática e o balanço simpatovagal cardíaco (TASK FORCE, 1996). O aumento da FC pós-exercício em comparação aos valores pré-exercício já foi bastante relatado na literatura em diferentes populações, como indivíduos saudáveis (FORJAZ et al., 2004), hipertensos (FLORAS et al., 1989; CLEROUX et al., 1992), diabéticos (ANARUMA et al., 2016) e com doença renal crônica (BROWN et al., 2017). Porém, outros estudos relataram manutenção da FC após uma sessão de exercício em indivíduos hipertensos (RUECKERT et al., 1996), indivíduos acometidos por acidente vascular encefálico (RAIMUNDO et al., 2013) e também em indivíduos com DAP e CI (CUCATO et al., 2015). O principal fator aceito como responsável pelas diferenças nas respostas da FC após o exercício aeróbico é a intensidade do exercício. Maior modulação simpática cardíaca e FC pós-exercício são relatadas após exercícios de intensidades mais elevadas em comparação a exercícios de intensidade leve a moderada (JAMES et al., 2012; BROWN et al., 2017; MICHAEL et al., 2017). A explicação pode se relacionar ao fato dos exercícios mais intensos promoverem maior ativação simpática e elevação da FC durante sua execução, necessitando de maior tempo para que a função autonômica e, consequentemente, a FC se reestabeleçam. Cabe ressaltar que em indivíduos com disfunção autonômica, a recuperação da FC pós-exercício está prejudicada devido à dificuldade da retirada simpática e reestabelecimento da atividade parassimpática para o coração

(PECANHA; SILVA-JUNIOR; FORJAZ, 2014; PECANHA et al., 2016). Assim, como os indivíduos com DAP e CI costumam apresentar disfunção autonômica (GOERNIG et al., 2008), a recuperação autonômica e da FC pós-exercício desses indivíduos podem estar ainda mais prejudicadas, principalmente após um exercício intenso, como o exercício máximo, explicando as alterações encontradas mesmo 20 a 30 min após a finalização do exercício.

Diferentemente do relatado em outras populações, que apresentam redução da PA (i.e. hipotensão pós-exercício) na primeira hora após a execução de um exercício máximo (FLORAS et al., 1989; FORJAZ et al., 1998; FORJAZ et al., 2004), no presente estudo, a caminhada até a dor máxima de claudicação aumentou a PAS e a PAD em comparação aos valores pré-exercício. Além disso, esse resultado também é diferente do observado em um estudo anterior do nosso grupo (CUCATO et al., 2015), no qual a caminhada realizada até a dor moderada produziu a hipotensão pós-exercício (i.e. redução da PA pós-exercício em relação ao valor pré-exercício). Lorentsen (1972) observou maior elevação da PAS e PAD após a realização de exercício com a perna afetada pela DAP em comparação ao exercício realizado com a perna não-afetada, sugerindo que o aumento da PA pós-exercício deve estar, pelo menos em parte, relacionado à oclusão arterial, ao desequilíbrio entre a oferta e demanda de oxigênio (O_2) para a musculatura afetada pela doença e à dor produzida. Nesse sentido, nessa população, devido à oclusão vascular, a caminhada produz desequilíbrio de O_2 e dor, sendo essas alterações maiores na caminhada máxima que submáxima, o que pode explicar as diferenças dos resultados do presente estudo para os anteriores da literatura e mesmo do nosso grupo, que usaram caminhadas submáximas.

Os mecanismos hemodinâmicos sistêmicos responsáveis pelo aumento da PA após a caminhada máxima não foram investigados. Porém, esse aumento pode estar relacionado ao aumento da FC, que pode ter causado aumento do débito cardíaco, uma vez que o volume sistólico não devia estar alterado após o exercício pois a recuperação foi conduzida na posição deitada, que facilita o retorno venoso. Por outro lado, é possível sugerir que a resistência vascular periférica poderia ter aumentado pós-exercício, levando ao aumento da PA. Porém, esse mecanismo parece improvável, visto que a exercício aeróbico costuma promover vasodilatação sustentada tanto na musculatura ativa quanto inativa após sua realização (HALLIWILL et al., 2013) e redução da atividade nervosa simpática periférica (HALLIWILL; TAYLOR; ECKBERG, 1996; BISQUOLO et al., 2005) quando a recuperação é conduzida na posição deitada. Cabe ressaltar ainda que a modulação simpática vasomotora, avaliada pela VPA, não estava modificada após a caminhada máxima, apoiando a ausência de alteração da

resistência periférica após o exercício em comparação ao pré-exercício. No entanto, essa resistência não foi medida de modo que essa hipótese precisa ser testada no futuro.

Considerando-se a ausência de hipotensão pós-exercício é importante destacar que o presente estudo não incluiu uma sessão controle, sem a execução de exercício, de modo que apesar de não haver redução da PA pós-exercício em relação aos valores pré-exercício, é possível que tenha havido um efeito hipotensor, reduzindo um aumento de PA que poderia ocorrer ao longo do tempo em função da sessão experimental ter sido realizada pela manhã, quando sabidamente a PA se eleva devido a sua variação circadiana (CUCATO et al., 2015; DE BRITO et al., 2015; SMOLENSKY; HERMIDA; PORTALUPPI, 2017). No entanto, essa é uma limitação do presente desenho experimental que deve ser levada em consideração ao se avaliar as respostas da PA pós-exercício.

Interessantemente, o aumento da PA e da FC pós-caminhada máxima ocorreu em paralelo, sugerindo uma alteração do controle barorreflexo para o coração. Estudos com outras populações (HEFFERNAN et al., 2007; SUN et al., 2016) relataram redução da SBR espontânea após uma sessão de exercício aeróbico, o que não ocorreu no presente estudo. As diferenças podem ser explicadas por alguns fatores. Um deles pode se referir ao fato da SBR em repouso dessa população já ser bastante reduzida, visto que em indivíduos saudáveis de mesma idade, a SBR observada na literatura varia entre 8,0 e 12,8 ms/mmHg (ALVAREZ et al., 2005; MADDEN et al., 2010; BOCK et al., 2017), enquanto que a SBR observada nos indivíduos desse estudo foi de $4,7 \pm 0,6$ ms/mmHg. Dessa forma, devido ao fato da sensibilidade já estar reduzida, ela não diminuiria mais após o exercício. Outra explicação pode se dever ao fato do estudo atual ter conduzido a recuperação na posição deitada. Apoiando essa explicação, alguns estudos que avaliaram a SBR pós-exercício aeróbico na posição deitada usando outras técnicas de indução de alterações (i.e. SBR não espontânea) não verificaram alteração ou mesmo relataram aumento da SBR (RACZAK et al., 2005; NIEMELA et al., 2008; BOUTCHER; HOPP; BOUTCHER, 2011). Independentemente da explicação para a ausência de alteração da SBR após a caminhada máxima nesse estudo, o fato é que se a SBR não se modificou, o ponto de ajuste (*set point*) desse reflexo deve ter se alterado para permitir o aumento paralelo da PA e da FC, o que precisa ser investigado.

Um aspecto bastante debatido na literatura é o efeito agudo do exercício aeróbico no NO. Embora o aumento de NO e sua função em promover a vasodilatação da musculatura ativa durante a execução do exercício já estejam bem estabelecidos (CASEY et al., 2010; CASEY; JOYNER, 2011; CASEY et al., 2011), a resposta aguda do NO após o exercício aeróbico é mais controversa (SCOTT et al., 2015; PUGA et al., 2016; MEDEIROS-LIMA et al., 2017). No

presente estudo, a caminhada máxima não modificou o NO sanguíneo e aumentou a expressão da eNOS no músculo afetado pela doença. Em relação à resposta sistêmica, os resultados observados foram diferentes dos obtidos em estudos anteriores. Allen et al. (2009) avaliaram a produção de nitrito plasmático após a realização de um teste máximo limitado pelo sintoma de CI e observaram redução dessa variável. Outro estudo (ALLEN et al., 2010) também relatou redução do NO quando avaliou indivíduos com CI após a realização de um teste máximo. Uma possível explicação para as divergências é que indivíduos com diferentes características clínicas podem produzir diferentes respostas de NO após o exercício. Isso pode ser exemplificado por um estudo anterior (ALLEN et al., 2006) que mostrou que indivíduos saudáveis aumentaram o NO após o exercício, enquanto que aqueles com doenças cardiovasculares não modificaram essa resposta, o que corrobora os dados do presente estudo. É interessante perceber que, quando comparamos algumas características clínicas dos indivíduos do presente estudo às características dos indivíduos com CI dos estudos anteriores (ALLEN et al., 2009; ALLEN et al., 2010), a atual amostra é composta apenas por homens com menor IMC e PAS, além de uma melhor capacidade de caminhada, o que pode ter se refletido em melhor resposta do NO pós-caminhada máxima. Além disso, é interessante notar que a expressão gênica da eNOS aumentou após o exercício máximo no músculo afetado pela doença, o que poderia explicar o extravasamento sistêmico de NO ao longo do tempo, contrapondo sua redução e reestabelecendo o nível pré-exercício após 30 min de recuperação. A possível explicação para o aumento da eNOS muscular é o fato da tensão de cisalhamento (*shear stress*) durante o exercício ser maior nas regiões ativas (GREEN et al., 2017) e, possivelmente, após o exercício, essa tensão permanecer elevada na região com a obstrução para o reestabelecimento do sangue (reperfusão) após o período de isquemia causado pela caminhada. É sabido que a tensão de cisalhamento é o principal estímulo para o aumento da expressão da eNOS (GREEN et al., 2017).

Em relação a resposta do estresse oxidativo, o presente estudo mostrou redução da defesa oxidante no sangue, com redução da atividade da CAT e manutenção da atividade da SOD. Porém, essa redução não resultou em maior estresse oxidativo, visto que o produto desse estresse, avaliado através da concentração da LPO no sangue não se modificou. Diferentemente do presente estudo, Nowak et al. (2012) observaram aumento da atividade da SOD sistêmica, e dois outros estudos (SILVESTRO et al., 2002; TURTON et al., 2002) relataram aumento da LPO após o exercício máximo. Assim, inicialmente, a resposta sistêmica do estresse oxidativo observada no presente estudo pode parecer diferente da esperada, entretanto, as diferenças entre os estudos, podem se dever ao tempo das análises após o exercício. Nesse sentido, o aumento

da defesa antioxidante observada por Nowak et al. (2012) ocorreu 6 horas após a finalização do exercício máximo, enquanto que Silvestro et al. (2002) e Turton et al. (2002) avaliaram o estresse oxidativo logo após a finalização do exercício físico. Assim, é possível hipotetizar que o estresse oxidativo sistêmico pós-caminhada máxima em indivíduos com CI tenha uma resposta de redução da capacidade antioxidante e aumento dos produtos desse estresse no início da recuperação, com uma inversão desse padrão ao longo do tempo, ou seja, melhora da capacidade antioxidante e redução do produto do estresse oxidativo. De fato, em favor dessa hipótese, no presente estudo, se os dados obtidos imediatamente após caminhada máxima forem comparados com os medidos pré-exercício, observa-se um aumento da LPO sanguínea ($17,6 \pm 3,9$ vs $22,3 \pm 4,2$ μM ; $p = 0,04$ - dados não mostrados nos resultados). Por outro lado, no músculo afetado pela doença, após a realização da caminhada máxima, houve aumento da defesa antioxidante, verificado pelo aumento da atividade da CAT e manutenção da atividade da SOD, com aumento do produto do estresse oxidativo, verificado pela elevação da LPO. Pelo nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a avaliar o efeito agudo da caminhada máxima no estresse oxidativo produzido no músculo afetado pela doença. Como indivíduos com CI têm conhecida disfunção mitocondrial, que afeta, principalmente, a cadeia transportadora de elétrons (PIPINOS et al., 2006) é esperado que os episódios de isquemia-reperfusão que ocorrem ao longo do exercício máximo estimulem a formação de espécies reativas de oxigênio (TISI; SHEARMAN, 1998). Essa via pode explicar o aumento da LPO muscular observado após a caminhada máxima no presente estudo. O aumento do estresse oxidativo pode estimular uma resposta compensatória, aumentando a defesa antioxidante (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VINA, 2008; GOMEZ-CABRERA; VINA; JI, 2009; RADAK et al., 2013), o que poderia explicar a elevação da atividade da CAT. Porém, esse aumento não foi capaz de suprimir totalmente o estresse gerado pelas espécies reativas até o momento da avaliação (cerca de 40 min após a finalização do exercício).

Considerando-se as respostas inflamatórias, o presente estudo mostrou aumento de todos os marcadores avaliados (IL-6, PCr, TNF-alfa, ICAM e VCAM) após a caminhada máxima tanto quando avaliados no sangue quanto no músculo, sendo os aumentos mais expressivas no músculo que no sangue. Esse padrão de resposta sugere que a resposta de inflamação é gerada no músculo e extrapola para o plasma sanguíneo. O aumento sistêmico dos marcadores inflamatórios após o exercício máximo já foi relatado por outros autores. Silvestro et al. (2002) observaram que após o esforço máximo as moléculas de adesão aumentaram no sangue dos indivíduos com CI. Neumann et al. (1990) investigaram indivíduos com CI e saudáveis e relataram aumento na distribuição e função de neutrófilos ativados no sangue após

a caminhada nos indivíduos com CI mas não nos saudáveis, sugerindo o papel da isquemia reperfusão nessa resposta inflamatória. Adicionalmente, outro estudo (KIRK et al., 1999) comparou indivíduos com CI a controles saudáveis após um teste máximo limitado pela dor de claudicação e observou maior aumento da IL-8 no sangue nos CI, o que reflete a maior ativação dos neutrófilos (HICKMAN; MCCOLLUM; BELCH, 1994). Corroborando esses achados, Brevetti et al. (2001) e Delaney e Spark (2015) também observaram, respectivamente, aumento de moléculas de adesão e da IL-6 no sangue logo após a realização de um exercício máximo em indivíduos com CI. Interessantemente, um estudo realizado por Nowak et al. (2012) relatou aumento do TNF-alfa após o exercício, mas essa resposta só ocorreu seis horas após a realização do exercício. Apesar da descrição do efeito do exercício máximo aumentando os marcadores inflamatórios no sangue, pelo nosso conhecimento, nenhum outro estudo havia avaliado a resposta desses marcadores após a caminhada máxima no músculo acometido pela doença, sendo essa uma contribuição inovadora para o conhecimento. É bastante conhecido que episódios de isquemia e reperfusão, como os que ocorrem durante a caminhada nos indivíduos com DAP e CI (HIRSCH et al., 2006; NORGRAN et al., 2007), promovem além de aumento do estresse oxidativo, inflamação (NEUMANN et al., 1990; BREVETTI et al., 2001; NAWAZ et al., 2001; DELANEY; SPARK, 2015). Assim, esses episódios podem ser responsáveis pelo aumento dos marcadores inflamatórios no músculo. Além disso, o maior aumento observado no músculo que no sangue sugere que parte desses marcadores é extravasada para o sangue.

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, é possível hipotetizar um modelo para as respostas observadas após a caminhada máxima em indivíduos com CI (Figura 15).

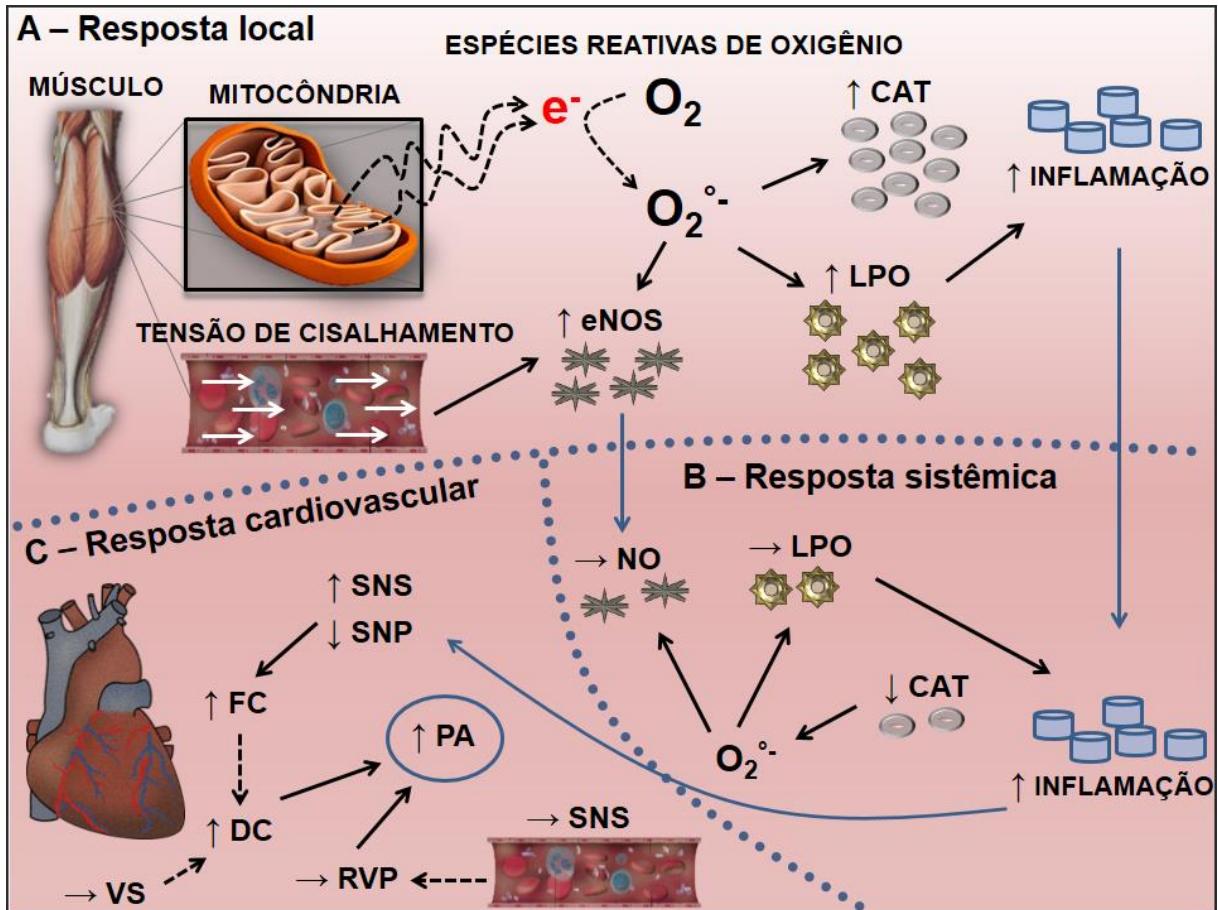


Figura 15. Modelo proposto para explicar as respostas obtidas após a caminhada máxima em indivíduos com claudicação intermitente. Oxigênio – O_2 ; Óxido nítrico sintase – eNOS; Catalase – CAT; Peroxidação lipídica – LPO; Óxido nítrico – NO; Sistema nervoso simpático – SNS; Sistema nervoso parassimpático; Resistência vascular periférica – RVP; Pressão arterial – PA; Débito cardíaco – DC; Volume sistólico – VS; Frequência cardíaca – FC.

Nesse modelo, é possível supor que, em indivíduos com CI, o processo muscular de isquemia durante a caminhada máxima e reperfusão após o esforço promova a uma piora da disfunção mitocondrial (PIPINOS et al., 2006), aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (PIPINOS et al., 2007). Essas espécies reativas (FERRARO et al., 2014) juntamente com o estresse de cisalhamento (GREEN et al., 2017) estimulariam o aumento da expressão gênica da eNOS, como observado neste estudo. Além disso, o estresse oxidativo estimularia a produção de antioxidantes, (RADAK et al., 2013; HE et al., 2016) promovendo o aumento da CAT muscular verificado nesse estudo. Porém, esse aumento da defesa antioxidante não seria suficiente para bloquear totalmente o estresse oxidativo, explicando o aumento da LPO no músculo apesar do aumento da CAT. O aumento do estresse oxidativo, por sua vez, poderia estimular o aumento da inflamação (LIAO et al., 1995), o que foi observado pela aumento da IL6, TNF-alfa, PCr, ICAM e VCAM no músculo. Esses marcadores inflamatórios podem extravasar para o sangue, aumentando suas concentrações sanguíneas, como visto no presente

estudo. De forma semelhante, o aumento da eNOS muscular poderia aumentar a produção local de NO, que também poderia extravasar para o sangue, impedindo a redução do NO sanguíneo e o aumento do estresse oxidativo no sangue (LPO mantida) apesar da redução da defesa antioxidante no sangue (redução da CAT). Concomitantemente aos processos locais e sistêmicos, a disfunção autonômica presente nessa população poderia manter a modulação autonômica cardíaca com predomínio simpático após o exercício, mantendo a FC elevada e, consequentemente, o débito cardíaco aumentado, gerando a elevação da PAS, da PAM e do DP pós-exercício.

Considerando-se as implicações clínicas dos achados do presente estudo em relação às respostas agudas à caminhada máxima, é importante ressaltar que a principal recomendação para o tratamento de indivíduos com DAP e sintomas de CI é a prática de exercícios físicos envolvendo ciclos de caminhada até a dor máxima de claudicação (GERHARD-HERMAN et al., 2017). Entretanto, como visto nos resultados do presente estudo, a execução de cada uma dessas caminhadas até a dor máxima resulta em aumento da sobrecarga cardíaca, da PA, do estresse oxidativo muscular e da inflamação sistêmica e muscular. Essas alterações agudas podem ser vistas como maléficas, possibilitando o aumento do risco cardiovascular em curto ou longo prazo. Nesse sentido, a permanência da FC e do balanço simpatovagal aumentados por um tempo prolongado após o exercício, mantém a sobrecarga cardiovascular elevada e pode facilitar a ocorrência de isquemias e arritmias nesse período (SHEN; ZIPES, 2014; COOTE; CHAUHAN, 2016), o que seria especialmente relevante em indivíduos com DAP e CI que tenham doença coronariana ou arritmias. Além disso, a ausência de redução da PA após o exercício pode privar os indivíduos do benefício hipotensor agudo (LUTTRELL; HALLIWILL, 2015), que pode ser obtido com exercícios menos intensos nessa população (CUCATO et al., 2015). Em relação aos efeitos sobre o estresse oxidativo e a inflamação, alguns autores sugerem que esse aumento pode contribuir, em longo prazo, para o agravamento da aterosclerose (TURTON et al., 1998; SILVESTRO et al., 2002; SIGNORELLI et al., 2003). No entanto, mais recentemente, tem sido sugerido que essas respostas agudas observadas nas primeiras horas após o exercício podem ser um gatilho para adaptações ao treinamento. Nesse sentido, num estudo anterior, verificamos que a redução do estresse oxidativo produzido por uma caminhada máxima em indivíduos com CI aboliu a formação de VEGF, que é um sinalizador para a angiogênese derivada do treinamento (DA SILVA et al., 2015). Dessa forma, a implicação clínica desses achados ainda não é clara, mas está baseada tanto no aumento do risco após a execução do exercício quanto no estímulo para as adaptações crônicas ao treinamento, o que deve ser ponderado.

6.4. Efeito do treinamento de caminhada nas respostas hemodinâmicas, autonômicas, de função endotelial, inflamatórias e de estresse oxidativo

6.4.1 Avaliadas em repouso

O TC promoveu redução da sobrecarga cardiovascular avaliada em repouso, uma vez que foi eficaz em diminuir a PAS, a PAM, a FC e o DP. Esses resultados confirmam os obtidos em um estudo anterior do nosso grupo (CHEHUEEN et al., 2017), que utilizou o mesmo protocolo de treinamento na mesma população. Dessa forma, esses resultados demonstram a consistência dos efeitos benéficos desse protocolo de TC na função cardiovascular da população com DAP e CI.

A redução da PAS de repouso observada no presente estudo foi ligeiramente superior à relatada na literatura para essa população (i.e. diminuição entre 6 e 8 mmHg) (IZQUIERDO-PORRERA et al., 2000; MANFREDINI et al., 2008; GRIZZO CUCATO et al., 2011) e em indivíduos hipertensos sem a presença de DAP e CI (i.e. reduções da PAS entre 5 e 8 mmHg) (CORNELISSEN; FAGARD, 2005; CORNELISSEN; BUYS; SMART, 2013). Ressalta-se, no entanto, a ausência de redução da PAD após o TC no presente estudo, o que está de acordo com os outros estudos na população com DAP e CI (IZQUIERDO-PORRERA et al., 2000; BRENDALE et al., 2001; NG et al., 2005; ROBERTS et al., 2008; CHEHUEEN et al., 2017) e apresenta uma resposta no mesmo sentido que a relatada em outras populações, como de hipertensos, em que a redução da PAD com o treinamento aeróbico é menor que a diminuição a PAS (CORNELISSEN; FAGARD, 2005). É importante ressaltar que os estudos anteriores com CI, que verificaram o efeito do treinamento de caminhada na PA, possuíam limitações metodológicas, como a ausência de aleatorização dos grupos (IZQUIERDO-PORRERA et al., 2000; MANFREDINI et al., 2008) ou mesmo ausência de um grupo controle (GRIZZO CUCATO et al., 2011). Assim, esse é o segundo estudo, além do anterior do nosso grupo (CHEHUEEN et al., 2017), aleatorizado e controlado a demonstrar o efeito benéfico do treinamento de caminhada, reduzindo a PA de indivíduos com CI. Dessa forma, fica claro que o treinamento de caminhada baseado na frequência cardíaca no limiar de dor melhora a função cardiovascular dessa população.

Quanto aos mecanismos responsáveis pela redução da PA com o TC, o presente estudo não avaliou os determinantes sistêmicos da PA, ou seja, o débito cardíaco e a resistência vascular sistêmica. Porém, no estudo anterior (CHEHUEEN et al., 2017), verificamos redução do débito cardíaco em função da diminuição da FC, o que está de acordo com os resultados de

redução da FC observados na presente investigação. Ressalta-se ainda, que no estudo anterior, a resistência vascular sistêmica não se modificou após o TC, o que é coerente com a manutenção da PAD observada nas duas investigações, bem como com a não alteração da VPA. Pelo nosso conhecimento, nosso estudo anterior é o único que avaliou a hemodinâmica sistêmica após o TC em indivíduos com DAP e CI.

Também de forma semelhante ao estudo anterior (CHEHUE et al., 2017) e confirmando, portanto, o efeito benéfico do TC na regulação autonômica cardiovascular, no presente estudo, a redução da FC de repouso após o TC foi acompanhada pela diminuição do balanço simpatovagal cardíaco, observado pela redução da razão BF/AF, que se relacionou tanto à redução da modulação simpática cardíaca (diminuição da banda BF normalizada) quanto ao aumento da modulação parassimpática cardíaca (redução da banda AF normalizada) (SMITH et al., 1989; SHIN et al., 1995). Essas alterações foram acompanhadas de aumento da SBR, o que explica a redução simultânea da PAS e da FC. Outros estudos da literatura também relataram redução da FC após o treinamento aeróbico em indivíduos com CI (MANFREDINI et al., 2008; ROBERTS et al., 2008; GRIZZO CUCATO et al., 2011), porém dois estudos anteriores que investigaram a resposta da modulação autonômica cardiovascular após o TC em indivíduos com CI não haviam verificado alterações da VFC, sugerindo a ausência de efeito desse treinamento nessa regulação (SANDERCOCK et al., 2007; LEICHT; CROWTHER; GOLLEDGE, 2011). A diferença entre esses resultados e os obtidos nos estudos no nosso grupo pode ser atribuída à alguns fatores, como: a ausência de indivíduos que usassem medicamentos que interferissem na VFC (i.e. betabloqueadores e os antagonistas do canal de cálcio não diidropiridínicos); o maior controle da intensidade de treinamento e o maior número amostral nos nossos estudos.

A complementariedade e novidade fornecida pelo presente estudo em relação aos achados anteriores do nosso grupo e da literatura foi a investigação dos efeitos do TC nos marcadores de função endotelial, estresse oxidativo e inflamação sistêmicos (medidos no sangue) e locais (medidos no músculo afetado pela doença).

O presente estudo observou melhora da concentração sanguínea de NO e da expressão gênica da eNOS no músculo após o TC, sugerindo o aumento da biodisponibilidade de NO tanto na musculatura afetada pela doença quanto no organismo como um todo. Os resultados obtidos no sangue corroboram a resposta relatada em dois estudos anteriores com indivíduos com CI. Nesse sentido, Arosio et al. (1999) e Allen et al. (2010) demonstraram aumento do nitrito plasmático (principal metabólito do NO) após um período de treinamento aeróbico em indivíduos com CI. Além disso, em outras populações, tais como jovens saudáveis

(TSUKIYAMA et al., 2017), diabéticos (KARIMI; REHMAN; GILLANI, 2017) e hipertensos, um aumentou do NO sanguíneo após o treinamento aeróbico também tem sido relatado. A novidade do presente estudo foi demonstrar o aumento na expressão gênica da eNOS no músculo afetado pela doença após o treinamento, o que, pelo nosso conhecimento, ainda não havia sido estudado. Essa resposta sugere que a medida sanguínea reflete, pelo menos em parte, o aumento da produção local de NO, o que é reforçado pelo fato de haver uma correlação positiva e significante entre o aumento do NO plasmático e da expressão gênica da eNOS muscular ($r = 0,514$; $p = 0,04$ - dados não demonstrados nos resultados).

Os mecanismos pelos quais o treinamento aumenta a expressão da eNOS local e o NO plasmático não foram investigados, mas uma hipótese pode ser sugerida. É possível que os aumentos do fluxo sanguíneo durante a execução regular das sessões de exercício ao longo do treinamento promovam aumentos da tensão de cisalhamento, que é um mecanismo reconhecido por estimular a produção do NO, via aumento da expressão gênica de eNOS e liberação de NO no plasma sanguíneo (GREEN et al., 2017). Esse aumento da biodisponibilidade de NO pode promover melhora da função endotelial. Corroborando com os resultados do presente estudo, em nosso estudo anterior (CHEHUEN et al., 2017), verificamos aumento da condutância vascular e da resposta vasodilatadora do antebraço após o TC em indivíduos com CI. Contrariamente, não verificamos aumento da condutância vascular e da resposta vasodilatadora na musculatura afetada pela doença, o que pode ser explicado pela presença da placa de ateroma, dificultando o efeito do TC apesar do aumento da expressão local da eNOS.

Considerando-se o estresse oxidativo, o TC aumentou a defesa antioxidante sistêmica e local, o que foi verificado pelo aumento da atividade da SOD e da CAT no sangue e da CAT no músculo. Essa maior defesa antioxidante impediu o aumento do estresse oxidativo com o passar do tempo nesses indivíduos (i.e. aumentos da LPO sanguínea e muscular observados no grupo CO), refletindo um efeito benéfico do TC. Na literatura, as informações a respeito do efeito do TC no estresse oxidativo na DAP e CI são bastante escassas e controversas. Um estudo (TURTON et al., 2002), que também avaliou os níveis sanguíneos de LPO após três e seis meses de treinamento em esteira ergométrica, não relatou nenhuma modificação nessa variável em nenhum dos momentos de medida. Por outro lado, Nowak et al. (2012) mostraram que um gene antioxidante (*HMOX2*) tendeu a aumentar ($p=0.06$) após 12 semanas TC em indivíduos com CI. Além disso, Schlager et al. (2011) mostraram que a dimetilarginina assimétrica, um modulador natural de estresse oxidativo, diminuiu após 24 semanas de TC nesses indivíduos. Dessa forma, os resultados do presente estudo, contribuem para a literatura demonstrando que o TC proposto foi capaz de aumentar a defesa antioxidante e evitar o aumento do estresse

oxidativo. É interessante notar que apesar da atividade da CAT ter aumentado tanto no sangue quanto no músculo, a atividade da SOD não aumentou no músculo. Alguns estudos sugerem que o aumento da atividade de alguns antioxidantes, como a SOD, após o treinamento físico ocorre, principalmente, em músculos compostos predominantemente por fibras oxidativas (i.e., do tipo I e tipo IIa) (POWERS et al., 1994; GONCHAR, 2005; FERRARO et al., 2014). Como indivíduos com CI têm redução do percentual de fibras oxidativas na musculatura afetada pela doença (KOUTAKIS et al., 2014), essa característica pode explicar, pelo menos em parte, a manutenção da atividade da SOD no músculo avaliado após o TC (perna com maior comprometimento de fluxo, ou seja, menor ITB). Os mecanismos pelos quais o TC estimula o aumento da resposta antioxidante não foram investigados no presente estudo, mas tem sido sugerido que a produção de espécies reativas de oxigênio durante a execução de cada sessão de exercício ativa vias primárias de sinalização, que levam à adaptação crônica do sistema no sentido de reduzir o estresse oxidativo (YAVARI et al., 2015).

De forma bastante evidente, o TC diminuiu a inflamação sistêmica e local dos indivíduos com DAP e CI, visto que todos os marcadores de inflamação medidos no músculo e no sangue, com exceção da IL-6 sanguínea, apresentaram redução após o TC, seja em comparação ao período anterior à intervenção ou ao que ocorreu no grupo CO. Assim, o TC diminuiu a PCR, o ICAM e o VCAM sanguíneos, além da IL6 e da PCr musculares e impediu o aumento do TNF-alfa sanguíneo e muscular, além do ICAM e VCAM musculares. A redução da inflamação sistêmica após o TC corrobora com alguns estudos anteriores. Nesse sentido, Saetre et al. (2011) avaliaram a resposta inflamatória sistêmica de indivíduos com CI após oito semanas de TC e relataram redução de alguns marcadores de adesão molecular, como ICAM e VCAM. Turton et al. (2002) observaram que após 12 semanas de TC houve redução da ativação de neutrófilos plasmáticos. Tisi et al. (1997) e Januszek et al. (2014) identificaram que 12 semanas de TC reduziram a PCr de indivíduos com CI e Nowak et al. (2012) observaram redução da IL-6 e TNF-alfa após o mesmo período de treinamento. Em contrapartida, outros estudos de Schlager et al. (2012), Delaney e Spark (2015) e Mika et al. (2013) relataram que o TC não proporcionou nenhum efeito anti-inflamatório em indivíduos com CI e Arosio et al. (2001) não observaram nenhuma alteração na adesão de neutrófilos. Existem diversas razões que podem explicar as diferenças nos resultados desses estudos, como diferenças no protocolo de treinamento; perda ou não de massa corporal durante a intervenção; diferença no estado inflamatório basal dos participantes e falta de grupo controle apropriado. Nesse sentido, o presente estudo contribui com a literatura, tendo demonstrado efeito anti-inflamatório importante em indivíduos com DAP e CI através de um protocolo de TC passível de ser

reproduzido, que não induziu perda de peso. Esses achados foram obtidos com um número adequado de indivíduos e com um desenho experimental que incluiu um grupo controle pareado. Destaca-se ainda a contribuição inovadora da presente investigação ao ter avaliado os marcadores inflamatórios na musculatura afetada pela doença e que é, provavelmente, a maior responsável pela produção da inflamação. Novamente, os mecanismos responsáveis pela redução do perfil inflamatório com o TC não foram estudados, mas alguns deles podem ser hipotetizados. Alguns estudos sugerem que o TC reduz a produção de células imunes relacionadas aos mediadores inflamatórios (Timmerman et al., 2008). Nesse sentido, o treinamento aeróbio em jovens saudáveis (Sloan et al., 2007) e idosos (Timmerman et al., 2008) promoveu redução do número de monócitos, o que levou à diminuição na produção de TNF-alfa. Além disso, outros estudos mostraram redução da expressão dos monócitos na superfície celular após um período de treinamento (Stewart et al., 2005; Gleeson; McFarlin; Flynn, 2006). Outro aspecto que pode explicar a redução da inflamação com o TC é o possível efeito desse treinamento aumentando as citoquinas anti-inflamatórias, que não foram medidas no presente estudo. Nesse sentido, a contração muscular esquelética durante a execução da caminhada secreta citocinas e aumenta o estresse oxidativo no músculo, como visto no objetivo 1 desse estudo. Esses dois fatores promovem, cronicamente, estímulo para o aumento sistêmico da defesa anti-inflamatória (Minuzzi et al., 2017), aumentando, por exemplo, a IL-10, que compromete a resposta inflamatória através da interferência ou da completa inibição da expressão de citoquinas pró-inflamatórias (Saraiva; O'Garra, 2010; Caton; Weissler, 2014). Outro mecanismo para a redução no perfil inflamatório com o TC é a melhora da capacidade de caminhada obtida com o TC, que pode promover menos episódios de isquemia e reperfusão ao longo do dia, resultando em menos inflamação. Para completar, a melhora da modulação autonômica cardiovascular e sua relação com a inflamação (Von Kanel et al., 2011) também podem ajudar a explicar a redução inflamatória com o TC. Esses mecanismos precisam ser estudados em investigações futuras.

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, é possível hipotetizar um modelo para as respostas observadas após o TC avaliadas em repouso nos indivíduos com CI (Figura 16).

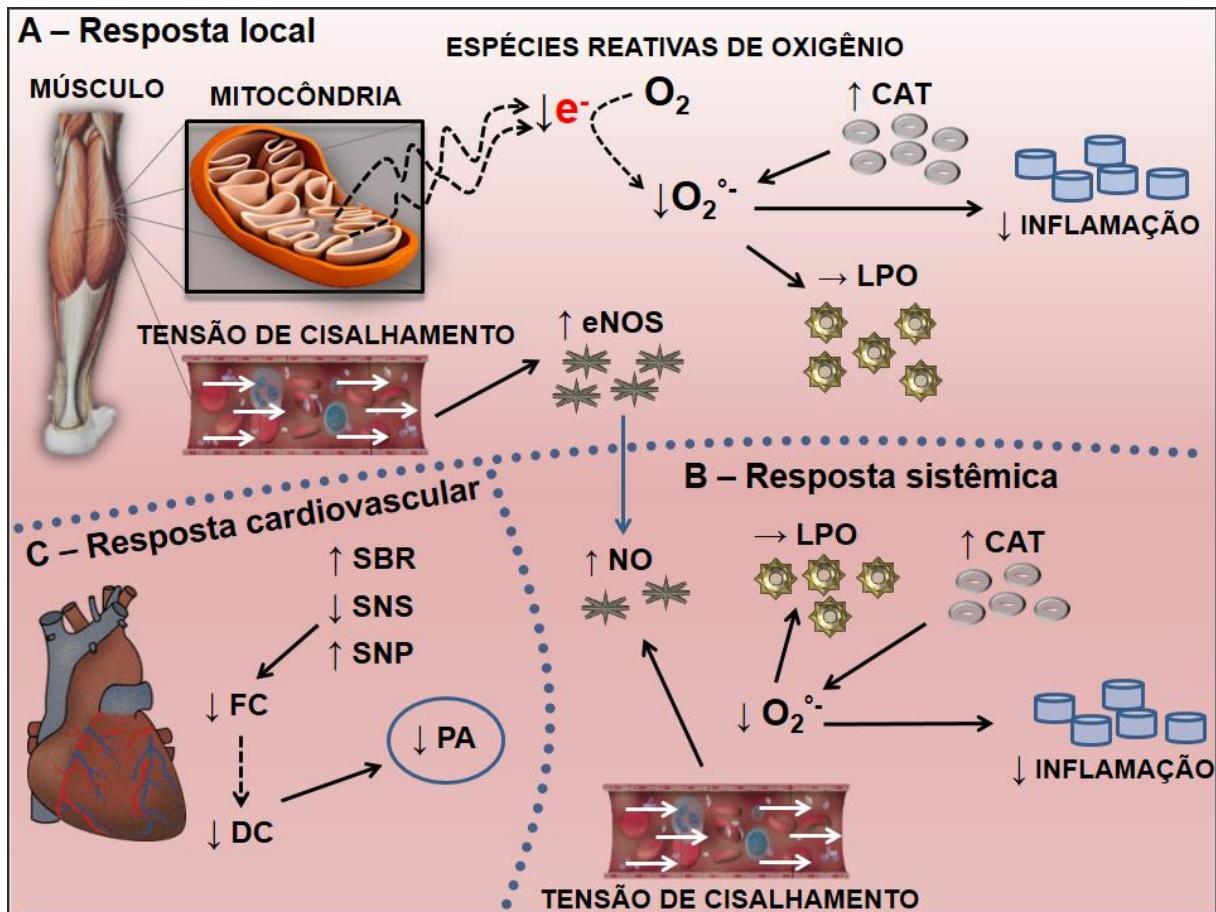


Figura 16. Modelo proposto para as respostas observadas após o TC avaliadas em repouso nos indivíduos com claudicação intermitente. Oxigênio – O_2 ; Óxido nítrico sintase – eNOS; Catalase – CAT; Peroxidação lipídica – LPO; Óxido nítrico – NO; Sensibilidade barorreflexa – SBR; Sistema nervoso simpático – SNS; Sistema nervoso parassimpático; Resistência vascular periférica – RVP; Pressão arterial – PA; Débito cardíaco – DC; Frequência cardíaca – FC.

Nesse modelo, é possível supor que, em indivíduos com CI, o treinamento promove adaptações na função muscular com melhora da função mitocondrial (LUNDGREN et al., 1989; STEWART et al., 2002; VAN SCHAARDENBURGH et al., 2017), que poderia levar à redução da produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, as repetidas sessões de exercício, induzindo isquemia muscular, poderiam fornecer estímulo para o aumento da eNOS local (GREEN et al., 2017), explicando o aumento observado no presente estudo. O treinamento poderia ainda melhorar a função endotelial sistêmica (BRENDLE et al., 2001; ALLEN et al., 2010), aumentando a biodisponibilidade de NO no sangue, como verificado no presente estudo. Paralelamente, o treinamento poderia estimular a melhora da defesa antioxidante e evitar um aumento do estresse oxidativo (HE et al., 2016), o que foi evidenciado nesse estudo pelo aumento da CAT muscular e sanguínea, impedindo a elevação da LPO nos dois locais de medida. As contrações repetidas com o treinamento poderiam também promover a redução da

inflamação derivada da melhora metabólica e oxidativa (STARKIE et al., 2003; SCHEELE; NIELSEN; PEDERSEN, 2009; BEAVERS; BRINKLEY; NICKLAS, 2010), como observado no presente estudo no sangue e no músculo. Concomitantemente, o TC também poderia promover melhora da função autonômica cardíaca (CHEHUEN et al., 2017), alterando a modulação autonômica cardíaca para um predomínio parassimpático e melhorando a sensibilidade barorreflexa, como evidenciado nesse estudo, o que leva à diminuição da FC, PAS, PAM e da sobrecarga cardiovascular (diminuição do DP) observadas.

Vale salientar que o efeito do TC na melhora de todos esses processos é bastante complexo, tendo em vista a inter-relação entre eles. Nesse sentido, a melhora da disfunção autonômica pode diminuir a inflamação através do chamado “*cholinergic anti-inflammatory pathway*” (JOHNSTON; WEBSTER, 2009; HUSTON; TRACEY, 2011), aumentar a expressão da eNOS (HAMANN et al., 2013) e produzir efeitos positivos na defesa antioxidante (KONG et al., 2012). Por outro lado, a melhora da biodisponibilidade de NO pode reduzir o estresse oxidativo e a inflamação (HARRISON et al., 2006 ; GREEN et al., 2017) e, por sua vez, a redução da inflamação pode aumentar a biodisponibilidade de NO e diminuir o estresse oxidativo (SITI HAWA; YUSOF; KAMSIAH, 2015; GAWROŃSKA et al., 2017).

Considerados em conjunto, os resultados do presente estudo em relação aos efeitos do TC na função e regulação cardiovascular, função endotelial, estresse oxidativo e inflamação medidos em repouso demonstram que o treinamento proposto reduziu a sobrecarga cardiovascular e melhorou a modulação autonômica cardiovascular dos indivíduos com DAP e CI, além de melhorar a biodisponibilidade de NO, o estresse oxidativo e o perfil inflamatório sistêmico e no músculo afetado pela doença. Esses efeitos podem ter importantes implicações clínicas nessa população. Inicialmente, eles contrapõem as alterações normalmente observadas na DAP, ou seja, aumento da PA (SELVIN; ERLINGER, 2004; BHATT et al., 2006; CARBAYO et al., 2007), disfunção autonômica (GOERNIG et al., 2008), função endotelial prejudicada (GOKCE et al., 2003; SILVESTRO et al., 2003), aumento do estresse oxidativo (BELCH et al., 1995) e aumento da inflamação (DANIELSSON et al., 2005; WILDMAN et al., 2005; DE HARO MIRALLES et al., 2010); tendendo a restaurar esses sistemas a condições mais adequadas de funcionamento. Além disso, a exacerbação desses sistemas pode trazer consequências inadequadas, que podem revertidas pelo treinamento. Nesse sentido, a redução da PA com o TC pode diminuir a ocorrência de lesões de órgãos-alvo da hipertensão arterial, bem como prevenir a ocorrência de acidente vascular cerebral relacionado à PA elevada (KU et al., 2017). O efeito do TC reduzindo o balanço simpatovagal cardíaco e a FC também pode reduzir o risco de ocorrência de arritmias, que são bastante comuns nessa população (CHANG

et al., 2016; ODUTAYO et al., 2016). A redução da PA e da FC, levando à diminuição do trabalho cardíaco, pode diminuir a chance de ocorrência de isquemias e paradas cardíacas, que também são comuns nessa população, tendo em vista a alta prevalência da doença coronariana associada à DAP (BHATT et al., 2006; HIRSCH et al., 2006). Todos esses efeitos podem se associar, ainda, a uma menor morbimortalidade cardiovascular. Nesse sentido, é bem conhecida a relação inversa entre os níveis de PA e o risco cardiovascular (JELNES et al., 1986). Da mesma forma, é sabido que a redução da SBR se associa a maior morbimortalidade cardiovascular (LA ROVERE et al., 2002), bem como a redução da função endotelial (OGREN et al., 2003; HUANG et al., 2007; VOGL et al., 2015) e o aumento do estresse oxidativo (MITTERMAYER et al., 2006; SIBAL et al., 2010; WILSON et al., 2010). Além disso, a relação entre aumento de marcadores inflamatórios e aumento da ocorrência de eventos cardiovasculares e mortalidade em indivíduos com DAP já está clara na literatura (BLANN et al., 1998; BARANI et al., 2005; BECKMAN et al., 2005; SILVESTRO et al., 2005; DEPALMA et al., 2010). Dessa forma, ao agir sobre todos esses sistemas, o TC poderia reduzir a morbimortalidade cardiovascular. O presente estudo não avaliou essa questão, mas um estudo anterior verificou maior sobrevida em indivíduos com DAP que aderiram ao tratamento com o exercício físico comparados àqueles que não aderiram (SAKAMOTO et al., 2009). É possível que os benefícios verificados nesse estudo sejam, pelo menos em parte, responsáveis por essa menor morbimortalidade.

6.4.2 Avaliadas em resposta a uma caminhada máxima

Além do efeito demonstrado em repouso, uma contribuição inovadora do presente estudo foi avaliar o efeito do TC nas respostas após a caminhada até a dor máxima de claudicação. Para isso, foram avaliados o efeito do treinamento nos Δ s (pós-pré exercício), que expressam se o treinamento mudou a resposta das variáveis ao exercício físico, bem como o efeito do treinamento sobre os valores absolutos das variáveis medidos após o exercício agudo, que expressam o efeito final do treinamento no pós-exercício.

Em relação à função cardiovascular, o presente estudo mostrou que as respostas (Δ) da PA, FC e DP após o exercício máximo de caminhada não se alteraram com o TC, demonstrando que esse treinamento não mudou o aumento da sobrecarga cardiovascular imposta agudamente após um esforço máximo, ou seja, antes e após o treinamento, a caminhada máxima promoveu o mesmo aumento da PA, FC e DP após sua execução. A não alteração da resposta cardiovascular após o exercício agudo está de acordo com vários estudos anteriores da

literatura conduzidos com outras populações. Assim, Headley et al. (2017) demonstraram que a resposta da PA após uma sessão de exercício aeróbio não se modificou após 16 semanas de treinamento de intensidade moderada (50 – 60% do VO_2 pico) em indivíduos com doença renal crônica. Corroborando esses resultados, Cornelissen et al. (2010) observaram que dois protocolos de treinamento aeróbio realizados durante 10 semanas com diferentes intensidades (33 ou 66% da FC de reserva) também não modificaram a resposta da PA após um teste de exercício máximo em idosos saudáveis. No mesmo sentido, Bonsu e Terblanche (2016) não relataram modificação na resposta da PA após um teste incremental até a exaustão após 2 semanas de treinamento aeróbio de alta intensidade (90 – 95% da $\text{HR}_{\text{máx}}$) em mulheres saudáveis. Dessa forma, vários estudos sugerem que o treinamento aeróbico não altera as respostas cardiovasculares agudas após uma sessão de exercício aeróbico. Entretanto, no presente estudo, apesar da resposta não ter se modificado com o treinamento, os valores absolutos da PA e do DP medidos pós-exercício foram reduzidos pelo treinamento físico, o que pode ser explicado pelos valores absolutos mais baixos observados pré-exercício (reduções da PA, FC e DP de repouso com o TC – relatadas e discutidas no tópico anterior). Dessa forma, o TC diminui a sobrecarga cardiovascular de repouso, não modifica o aumento dessa sobrecarga após o exercício máximo, e, portanto, resulta em menor sobrecarga absoluta após o esforço agudo. Assim, o TC teve um importante efeito benéfico nos indivíduos com CI, resultando em redução da sobrecarga cardiovascular antes e após a realização aguda do exercício físico.

Considerando-se o efeito do treinamento nas respostas da modulação autonômica cardiovascular após o exercício máximo de caminhada, medida pelos índices da VFC e VPA, não houve nenhuma modificação nem nos Δs nem nos valores absolutos pós-exercício, demonstrando que o treinamento crônico também não altera a resposta autonômica após o esforço agudo máximo, que se caracteriza, como visto anteriormente, pelo aumento do balanço simpatovagal cardíaco (aumento do BF e BF/AF e redução da AF) e não alteração da modulação simpática vasomotora (manutenção do VT e BF da PA). Esses resultados foram compatíveis com quatro outros estudos conduzidos com jovens e idosos saudáveis, que empregaram diferentes tipos de treinamento e não observaram modificação nos valores dos índices de VFC após diferentes exercícios agudos (PERINI et al., 2002; VERHEYDEN et al., 2006; MARTINMAKI et al., 2008; CORNELISSEN et al., 2010). Dessa forma, independente da população avaliada ou volume e intensidade do protocolo utilizado no treinamento, o treinamento aeróbico parece não modificar a modulação autonômica cardíaca após um exercício agudo.

Entretanto, é interessante notar que o TC reduziu a resposta da SBR após a caminhada máxima, sem alterar o valor absoluto dessa sensibilidade após o exercício. Como visto nas análises anteriores, agudamente, a SBR dessa população não se altera após o exercício máximo e, cronicamente, ela aumentou em repouso. Dessa forma, é possível, como discutido anteriormente, que antes do treinamento, a SBR não diminuiu com o exercício agudo por já estar reduzida pré-exercício mas, como o treinamento tendeu a normalizar essa sensibilidade, aumentando-a em repouso, essa melhora possibilitou uma resposta de redução após o exercício agudo, como observado em outras populações (HEFFERNAN et al., 2007; SUN et al., 2016).

Em relação à função endotelial, avaliada pela biodisponibilidade de NO e expressão gênica da eNOS medidas, respectivamente, no sangue e no músculo, o presente estudo mostrou que o TC diminuiu a resposta (Δ) desses marcadores após o exercício máximo de caminhada, sem alterar seus valores absolutos medidos pós-exercício. Essa resposta está de acordo com o aumento desses marcadores observados após o treinamento na condição pré-exercício (resultado demonstrado anteriormente). Dessa forma, é possível supor que o TC nessa população aumente os marcadores sistêmicos e locais da função endotelial de indivíduos com CI, reduzindo a resposta aguda desses marcadores à caminhada máxima, o que resulta no mesmo nível desses marcadores pós-exercício. Estudos prévios sobre o efeito do treinamento na resposta do NO a uma sessão aguda de exercício são escassos e apresentam resultados controversos. Dois estudos, um realizado com indivíduos com CI (ALLEN et al., 2010) e outro com mulheres pós-menopausa (NYBERG et al., 2017) mostraram que o treinamento aumentou, respectivamente, a resposta do nitrito plasmático e da eNOS muscular após o exercício máximo. Por outro lado, um terceiro estudo (HOIER et al., 2012) com indivíduos saudáveis demonstrou que o treinamento não alterou a eNOS muscular pós-exercício moderado contínuo. Alguns fatores podem explicar as diferenças entre os estudos, tais como: diferentes populações avaliadas (saudáveis, mulheres com menopausa e indivíduos com CI), ausência de grupo controle, intensidade do teste utilizado, local onde a biópsia foi realizada, tempo após o exercício para a medida e forma de avaliar a resposta pós-exercício.

No presente estudo, o TC não modificou nem a resposta (Δ) nem os valores absolutos dos marcadores de capacidade antioxidante (SOD e CAT) sistêmica e local após a caminhada máxima, embora tenha aumentado essas capacidades no repouso pré-exercício. Por outro lado, um estudo anterior (NOWAK et al., 2012), que avaliou o impacto do TC na resposta de expressão do gene da SOD após um teste máximo em indivíduos com CI, relatou atenuação da expressão desse gene no sangue. Considerando-se o estresse oxidativo, os resultados desse estudo demonstraram que o TC não modificou a resposta (Δ) sistêmica e local desse estresse

após a caminhada máxima, visto que resposta da concentração de LPO no sangue e músculo não se alteraram após o treinamento. Por outro lado, esse treinamento, assim como na condição de repouso pré-exercício (discutida anteriormente), também impediu o aumento da LPO no sangue pós-exercício que foi observada no CO. Esses resultados são semelhantes aos relatados por Turton et al. (2002) que relataram resposta (Δ) similar de estresse oxidativo ao esforço máximo após o treinamento aeróbico em indivíduos com CI.

Interessantemente, no presente estudo, o TC aumentou a resposta (Δ) inflamatória sistêmica e local após a caminhada máxima, visto que o Δ de vários marcadores (TNF-alfa, ICAM e VCAM no sangue e IL6, PCr e VCAM no músculo) foram maiores no final do estudo no grupo TC que no CO. Apesar dessa maior resposta inflamatória, os valores absolutos dos marcadores inflamatórios medidos pós-exercício não se modificaram ou mesmo estavam menores (VCAM no músculo) no grupo TC no final do estudo, o que pode ser explicado pela redução da inflamação sistêmica e local pré-exercício observada no grupo TC (discutida anteriormente). Em outras palavras, cronicamente, o TC diminuiu a inflamação sistêmica e local em repouso, permitindo um maior aumento dessa inflamação após um esforço máximo agudo, mas mantendo os níveis de inflamação iguais ou menores ao observados antes do treinamento.

Alguns estudos da literatura relataram que o TC atenua as respostas inflamatórias causadas por uma única sessão de exercício. Nesse sentido, Nowak et al. (2012) mostraram que o TC reduziu o valor de TNF-alfa após o teste máximo seis horas após o exercício. Outro estudo (TURTON et al., 2002) demonstrou menor aumento na ativação de neutrófilos após o exercício máximo. Um estudo mais recente (DELANEY; SPARK, 2015) relatou que o TC reduziu alguns indicadores pró-inflamatórios após uma sessão aguda de exercício. Cabe ressaltar que todos os estudos citados observaram essas respostas apenas no plasma sanguíneo e as medidas foram feitas em momentos pós-exercício distintos do utilizados no presente estudo.

Como visto acima, para a análise do efeito do TC sobre todas as respostas pós-exercício, a comparação com a literatura é extremamente difícil devido, principalmente, às diferenças nos momentos pós-exercício em que as variáveis foram medidas, visto que por se tratar de um período de recuperação, todas as variáveis analisadas tendem a se alterar ao longo do tempo (LUTTRELL; HALLIWILL, 2015). Dessa forma, as divergências com a literatura não devem refletir incoerência nas respostas, mas possivelmente, refletem essa dinâmica da recuperação.

Analizados em conjunto, os efeitos do TC sobre as respostas após a caminhada máxima se expressam, de modo geral, pela redução ou manutenção das respostas após exercício

(Δ), com manutenção ou redução dos valores pós-exercício (i.e. o TC diminuiu a sobrecarga cardiovascular, não alterou a regulação autonômica, manteve a biodisponibilidade de NO, impediu o aumento do estresse oxidativo e reduziu a inflamação pós-exercício). Cumpre lembrar, que essas respostas de redução ou manutenção desses processos ocorreu apesar do esforço máximo após o TC representar uma maior carga total de trabalho, ou seja, após o treinamento, os indivíduos com CI conseguiram caminhar mais (maior DTC) e, mesmo assim, apresentaram valores pós-exercício de todos os processos analisados iguais ou melhores que antes do treinamento, o que sugere um efeito benéfico do TC proposto não só em repouso, mas também nas situações em que o organismo é submetido a esforços máximos, ou seja, a episódios máximos de isquemia e reperfusão. Possivelmente, se o esforço proposto fosse submáximo, as respostas benéficas do TC seriam ainda mais evidentes, o que deve ser investigado no futuro.

6.5. Limitações do estudo

Esse estudo tem algumas limitações que devem ser levadas em consideração. Todos os indivíduos que participaram do estudo eram do sexo masculino e se encontravam no estágio II da DAP, de modo que os resultados obtidos não podem ser extrapolados para mulheres e pessoas em outros estágios da doença (assintomáticos e estágios III e IV). Além disso, não foram incluídos indivíduos em uso de medicamentos que poderiam afetar as respostas da avaliação da VFC e VPA, tais como betabloqueadores e bloqueadores de canal de cálcio não-diidropiridínicos, de modo que os resultados também não podem ser extrapolados para indivíduos em uso dessas medicações. Adicionalmente, é importante ressaltar que os indivíduos estavam em uso de diferentes tipos de medicamentos, o que pode ter afetado as respostas e não permite avaliar a interação entre o treinamento e nenhuma classe específica de medicamento. Porém, os indivíduos com DAP têm várias comorbidades e, normalmente, recebem medicamentos diferentes para cada uma delas. Portanto, esse fator, aumenta a aplicabilidade prática dos resultados.

O estudo envolveu um protocolo de treinamento em esteira com duração de 60 minutos e realizado de forma intervalada (2 minutos caminhando x 2 minutos em repouso) e com uma intensidade baseada na FC do limiar de dor. Dessa forma, esses resultados são válidos para esse protocolo específico de treinamento. No entanto, os resultados devem ser semelhantes com outros protocolos de treinamento aeróbico baseados na caminhada, com intensidade leve a moderada e que levem à dor moderada de claudicação durante sua execução, mas não devem

se aplicar a protocolos de treinamento de força ou até a dor máxima, entre outros. Estudo futuros devem testar o efeito desses outros protocolos. No mesmo sentido, a resposta aguda ao exercício e o efeito do treinamento de caminhada nessa resposta foram avaliados após uma sessão de caminhada até a dor máxima de claudicação, usando-se um protocolo proposto por Gardner et al. (1991). Respostas semelhantes devem ser obtida com outros protocolos de caminhada máxima, mas resultados diferentes são esperados se a caminhada não levar à dor máxima de claudicação. Os efeitos do treinamento nessa situação ainda precisam ser investigados.

Devido ao elevado número de objetivos e variáveis do presente estudo, não foi feito um cálculo amostral *a priori* e o número de sujeitos incluído na amostra foi previsto com base nos estudos anteriores da literatura, resultando num número superior ou similar ao normalmente observado (AROSIO et al., 1999; AROSIO et al., 2001; WOOD et al., 2006; DUSCHA et al., 2011; SCHLAGER et al., 2011; NOWAK et al., 2012; DELANEY; SPARK, 2015). Posteriormente, o cálculo do poder estatístico foi realizado para cada análise, obtendo-se poder acima de 80% em muitas deles. Porém, em algumas análises, o poder foi baixo, de modo que se deve tomar cuidado com a interpretação desses resultados quando não houve significância, devido ao aumento do risco de erro do tipo II.

6.6. Implicações clínicas dos achados em geral

Como apontado na introdução, indivíduos com DAP e sintomas de CI possuem redução da capacidade de caminhada (HIATT et al., 1988) e qualidade de vida (SPRONK et al., 2007), além de aumento da morbimortalidade cardiovascular (WEITZ et al., 1996). O aumento do risco cardiovascular nessa população se associa, entre outros fatores, à sobrecarga cardiovascular (JELNES et al., 1986; WEITZ et al., 1996), à disfunção autonômica (GOERNIG et al., 2008), à redução da disponibilidade de NO (VOGL et al., 2015), ao aumento de estresse oxidativo (SIBAL et al., 2010) e ao aumento da inflamação (DEPALMA et al., 2010). Dessa forma, é importante que as condutas de tratamento nesses indivíduos melhorem esses indicadores, reduzindo o risco de morbimortalidade cardiovascular.

O protocolo de TC proposto nesse estudo foi eficaz em aumentar a capacidade de caminhada, melhorar a função cardiovascular e diminuir a disfunção autonômica, reproduzindo os achados do estudo anterior do nosso grupo (CHEHUE et al., 2017). Além disso, neste estudo, esse protocolo também se mostrou eficaz em aumentar a biodisponibilidade de NO e reduzir os marcadores de estresse oxidativo e inflamação medidos em condições basais. Adicionalmente, essas adaptações positivas foram evidenciadas tanto sistêmica como

localmente, demonstrando um efeito global do TC nos indivíduos com CI. Como a presença de todas essas alterações se associam ao aumento risco cardiovascular nessa população, os efeitos do TC minimizando essas alterações pode explicar, pelo menos em parte, a menor morbimortalidade cardiovascular desses indivíduos após o TC (SAKAMOTO et al., 2009). Dessa forma, esses benefícios reforçam a recomendação do treinamento de caminhada na DAP e CI não apenas para aumentar a capacidade funcional, mas por seus benefícios cardiovasculares.

O presente estudo investigou também as respostas agudas a uma sessão de caminhada máxima nos indivíduos com DAP e CI e verificou, como esperado, que agudamente há, após o exercício, um aumento da sobrecarga cardiovascular, da modulação autonômica cardíaca no sentido de um aumento do balanço simpatovagal, do estresse oxidativo local e da inflamação sistêmica e local. Essas respostas agudas podem aumentar o risco cardiovascular durante o período de recuperação pós-exercício, principalmente em indivíduos propensos a arritmias. No entanto, com o treinamento crônico, apesar do exercício máximo implicar em maior trabalho, atingindo-se maior DTC, de modo geral, a resposta aguda dos marcadores dos processos descritos não se modifica ou diminui, de modo que o treinamento crônico não aumenta e pode reduzir o risco agudo de cada sessão de caminhada máxima.

7. CONCLUSÕES

Em indivíduos com DAP e CI:

- 1- Uma sessão de caminhada máxima promove, agudamente após sua execução, aumento da sobrecarga cardiovascular, alteração da modulação autonômica cardíaca para o predomínio simpático, aumento do estresse oxidativo e da expressão gênica da eNOS no local da lesão aterosclerótica e aumento da inflamação sistêmica e local.
- 2- O treinamento de caminhada, realizado por 12 semanas na intensidade da FC do limiar de dor, reduz a sobrecarga cardiovascular e modifica a modulação autonômica cardíaca para o predomínio parassimpático, aumentando a SBR. Além disso, esse treinamento aumenta a biodisponibilidade de NO, diminui o estresse oxidativo e reduz a inflamação tanto sistêmicos quanto no local da lesão aterosclerótica.
- 3- O treinamento de caminhada, realizado por 12 semanas na intensidade da FC do limiar de dor, de modo geral, mantém ou reduz as respostas da sobrecarga cardiovascular, modulação autonômica cardíaca, biodisponibilidade de NO, estresse oxidativo e inflamação sistêmicos e locais após uma caminhada até a dor máxima de claudicação.

REFERÊNCIAS

ALLEN, J. D. et al. Total nitrogen oxide following exercise testing reflects endothelial function and discriminates health status. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 41, n. 5, p. 740-747, 2006.

ALLEN, J. D. et al. Plasma nitrite response and arterial reactivity differentiate vascular health and performance. **Nitric Oxide**, v. 20, n. 4, p. 231-237, 2009.

ALLEN, J. D. et al. Plasma nitrite flux predicts exercise performance in peripheral arterial disease after 3months of exercise training. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 6, p. 1138-1144, 2010.

ALLEN, J. D. et al. Diabetes status differentiates endothelial function and plasma nitrite response to exercise stress in peripheral arterial disease following supervised training. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 28, n. 2, p. 219-225, 2014.

ALVAREZ, G. E. et al. Weight loss increases cardiovagal baroreflex function in obese young and older men. **Am J Physiol Endocrinol Metab** v. 289, n. 4, p. E665-669, 2005.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. **ACSM'S guidelines for exercise testing and prescription.** 2006. 366.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 17, p. 7915-7922, 1993.

ANARUMA, C. P. et al. Heart rate variability and plasma biomarkers in patients with type 1 diabetes mellitus: Effect of a bout of aerobic exercise. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 111, p. 19-27, 2016.

ANATOLIOTAKIS, N. et al. Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 115-138, 2013.

ANDRADE LIMA, A. H. et al. Low-intensity resistance exercise does not affect cardiac autonomic modulation in patients with peripheral artery disease. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 68, n. 5, p. 632-637, 2013.

ANDREOZZI, G. M. et al. Acute impairment of the endothelial function by maximal treadmill exercise in patients with intermittent claudication, and its improvement after supervised physical training. **International Angiology**, v. 26, n. 1, p. 12-17, 2007.

AROSIO, E. et al. Increased endogenous nitric oxide production induced by physical exercise in peripheral arterial occlusive disease patients. **Life Sciences**, v. 65, n. 26, p. 2815-2822, 1999.

AROSIO, E. et al. Vascular adhesion molecule-1 and markers of platelet function before and after a treatment with iloprost or a supervised physical exercise program in patients with peripheral arterial disease. **Life Sciences**, v. 69, n. 4, p. 421-433, 2001.

BAINTON, D. et al. Peripheral vascular disease: consequence for survival and association with risk factors in the Speedwell prospective heart disease study. **British Heart Journal**, v. 72, n. 2, p. 128-132, 1994.

BAKKE, E. F. et al. Blood pressure in patients with intermittent claudication increases continuously during walking. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 33, n. 1, p. 20-25, 2007.

BALTGALVIS, K. A. et al. Exercise performance and peripheral vascular insufficiency improve with AMPK activation in high-fat diet-fed mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** v. 306, n. 8, p. H1128-1145, 2014.

BARANI, J. et al. Inflammatory mediators are associated with 1-year mortality in critical limb ischemia. **Journal of Vascular Surgery**, v. 42, n. 1, p. 75-80, 2005.

BARKER, G. A. et al. Walking performance, oxygen uptake kinetics and resting muscle pyruvate dehydrogenase complex activity in peripheral arterial disease. **Clinical Science (Lond)**, v. 106, n. 3, p. 241-249, 2004.

BARREIRO, E. Protein carbonylation and muscle function in COPD and other conditions. **Mass Spectrometry Reviews**, , 2013.

BAUER, T. A.; BRASS, E. P.; HIATT, W. R. Impaired muscle oxygen use at onset of exercise in peripheral arterial disease. **Journal of Vascular Surgery**, v. 40, n. 3, p. 488-493, 2004.

BEAVERS, K. M.; BRINKLEY, T. E.; NICKLAS, B. J. Effect of exercise training on chronic inflammation. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, n. 11-12, p. 785-793, 2010.

BECKMAN, J. A. et al. Comparison of usefulness of inflammatory markers in patients with versus without peripheral arterial disease in predicting adverse cardiovascular outcomes (myocardial infarction, stroke, and death). **American Journal of Cardiology**, v. 96, n. 10, p. 1374-1378, 2005.

BELCH, J. J. et al. Oxidative stress is present in atherosclerotic peripheral arterial disease and further increased by diabetes mellitus. **International Angiology**, v. 14, n. 4, p. 385-388, 1995.

BERGSTROM, J. Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 35, n. 7, p. 609-616, 1975.

BHAT, H. K. et al. Skeletal muscle mitochondrial DNA injury in patients with unilateral peripheral arterial disease. **Circulation**, v. 99, n. 6, p. 807-812, 1999.

BHATT, D. L. et al. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. **The Journal of the American Medical Association**, v. 295, n. 2, p. 180-189, 2006.

BISQUOLO, V. A. et al. Previous exercise attenuates muscle sympathetic activity and increases blood flow during acute euglycemic hyperinsulinemia. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 3, p. 866-871, 2005.

BLAKE, G. J.; RIDKER, P. M. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. **Circulation Research**, v. 89, n. 9, p. 763-771, 2001.

BLANN, A. D. et al. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral artery disease and hypercholesterolaemia: relationship to the location of atherosclerotic disease, smoking, and in the prediction of adverse events. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n. 6, p. 1080-1085, 1998.

BOCK, J. M. et al. Inorganic nitrate supplementation attenuates peripheral chemoreflex sensitivity but does not improve cardiovagal baroreflex sensitivity in older adults. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, p. ajpheart 00389 02017, 2017.

BOGER, R. H. et al. Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 32, n. 5, p. 1336-1344, 1998.

BONSU, B.; TERBLANCHE, E. The training and detraining effect of high-intensity interval training on post-exercise hypotension in young overweight/obese women. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 1, p. 77-84, 2016.

BOULTON, A. J. et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 28, n. 4, p. 956-962, 2005.

BOUTCHER, Y. N.; HOPP, J. P.; BOUTCHER, S. H. Acute effect of a single bout of aerobic exercise on vascular and baroreflex function of young males with a family history of hypertension. **Journal of Human Hypertension**, v. 25, n. 5, p. 311-319, 2011.

BRANDSMA, J. W. et al. The effect of exercises on walking distance of patients with intermittent claudication: a study of randomized clinical trials. **Physical Therapy**, v. 78, n. 3, p. 278-286; discussion 286-278, 1998.

BRENDLE, D. C. et al. Effects of exercise rehabilitation on endothelial reactivity in older patients with peripheral arterial disease. **American Journal of Cardiology**, v. 87, n. 3, p. 324-329, 2001.

BREVETTI, G. et al. Exercise increases soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in patients with intermittent claudication. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 24, n. 3, p. 193-199, 2001.

BREVETTI, G. et al. Carnitine-related alterations in patients with intermittent claudication: indication for a focused carnitine therapy. **Circulation**, v. 93, n. 9, p. 1685-1689, 1996.

BREVETTI, G. et al. Superiority of L-propionylcarnitine vs L-carnitine in improving walking capacity in patients with peripheral vascular disease: an acute, intravenous, double-blind, cross-over study. **European Heart Journal**, v. 13, n. 2, p. 251-255, 1992.

BREVETTI, G.; SCHIANO, V.; CHIARIELLO, M. Cellular adhesion molecules and peripheral arterial disease. **Vascular Medicine**, v. 11, n. 1, p. 39-47, 2006.

_____. Endothelial dysfunction: a key to the pathophysiology and natural history of peripheral arterial disease? **Atherosclerosis**, v. 197, n. 1, p. 1-11, 2008.

BROWN, P. D. S. et al. Impact of Intradialytic Exercise Intensity on Urea Clearance in Hemodialysis Patients. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, , 2017.

CARBAYO, J. A. et al. Using ankle-brachial index to detect peripheral arterial disease: prevalence and associated risk factors in a random population sample. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 17, n. 1, p. 41-49, 2007.

CARTER, S. A. et al. Walking ability and ankle systolic pressures: observations in patients with intermittent claudication in a short-term walking exercise program. **Journal of Vascular Surgery**, v. 10, n. 6, p. 642-649, 1989.

CASEY, D. P.; JOYNER, M. J. Local control of skeletal muscle blood flow during exercise: influence of available oxygen. **Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 6, p. 1527-1538, 2011.

CASEY, D. P. et al. Nitric oxide contributes to the augmented vasodilatation during hypoxic exercise. **The Journal of Physiology**, v. 588, n. Pt 2, p. 373-385, 2010.

CASEY, D. P. et al. Ageing reduces the compensatory vasodilatation during hypoxic exercise: the role of nitric oxide. **The Journal of Physiology**, v. 589, n. Pt 6, p. 1477-1488, 2011.

CATON, A. J.; WEISSLER, K. A. Regulatory cells in health and disease. **Immunological Reviews**, v. 259, n. 1, p. 5-10, 2014.

CHANG, C. J. et al. Atrial Fibrillation Increases the Risk of Peripheral Arterial Disease With Relative Complications and Mortality: A Population-Based Cohort Study. **Medicine (Baltimore)**, v. 95, n. 9, p. e3002, 2016.

CHEHUE, M. et al. Walking training at the heart rate of pain threshold improves cardiovascular function and autonomic regulation in intermittent claudication: A randomized controlled trial. **Journal of Science and Medicine in Sport**, , 2017.

CLEROUX, J. et al. Aftereffects of exercise on regional and systemic hemodynamics in hypertension. **Hypertension**, v. 19, n. 2, p. 183-191, 1992.

COOTE, J. H.; CHAUHAN, R. A. The sympathetic innervation of the heart: Important new insights. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 199, p. 17-23, 2016.

CORNELISSEN, V. A.; BUYS, R.; SMART, N. A. Endurance exercise beneficially affects ambulatory blood pressure: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Hypertension**, v. 31, n. 4, p. 639-648, 2013.

CORNELISSEN, V. A.; FAGARD, R. H. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 667-675, 2005.

CORNELISSEN, V. A. et al. Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. **Journal of Human Hypertension**, v. 24, n. 3, p. 175-182, 2010.

CRIQUI, M. H. et al. Biomarkers in peripheral arterial disease patients and near- and longer-term mortality. **Journal of Vascular Surgery**, v. 52, n. 1, p. 85-90, 2010.

CUCATO, G. G. et al. Exercise prescription using the heart of claudication pain onset in patients with intermittent claudication. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 68, n. 7, p. 974-978, 2013.

CUCATO, G. G. et al. Post-walking exercise hypotension in patients with intermittent claudication. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 47, n. 3, p. 460-467, 2015.

CUCATO, G. G. et al. Post-resistance exercise hypotension in patients with intermittent claudication. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 66, n. 2, p. 221-226, 2011.

DA SILVA, N. D., JR. et al. Effects of oral N-acetylcysteine on walking capacity, leg reactive hyperemia, and inflammatory and angiogenic mediators in patients with intermittent claudication. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** v. 309, n. 5, p. H897-905, 2015.

DANIELSSON, P. et al. Inflammatory markers and IL-6 polymorphism in peripheral arterial disease with and without diabetes mellitus. **Vascular Medicine**, v. 10, n. 3, p. 191-198, 2005.

DE BRITO, L. C. et al. Post-Exercise Hypotension and Its Mechanisms Differ after Morning and Evening Exercise: A Randomized Crossover Study. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0132458, 2015.

DE CATERINA, R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 3, n. 6, p. 453-467, 2000.

DE HARO, J. et al. Direct association between C-reactive protein serum levels and endothelial dysfunction in patients with claudication. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 35, n. 4, p. 480-486, 2008.

DE HARO MIRALLES, J. et al. Onset of peripheral arterial disease: role of endothelin in endothelial dysfunction. **Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery**, v. 10, n. 5, p. 760-765, 2010.

DELANEY, C. L. et al. The impact of different supervised exercise regimens on endothelial function in patients with intermittent claudication. **Vascular** v. 23, n. 6, p. 561-569, 2015.

DELANEY, C. L.; SPARK, J. I. A randomised controlled trial of two supervised exercise regimens and their impact on inflammatory burden in patients with intermittent claudication. **Vascular**, 2015.

DEPALMA, R. G. et al. Ferritin levels, inflammatory biomarkers, and mortality in peripheral arterial disease: a substudy of the Iron (Fe) and Atherosclerosis Study (FeAST) Trial. **Journal of Vascular Surgery**, v. 51, n. 6, p. 1498-1503, 2010.

DEPARTAMENTO DE ATROSCLEROSE DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, 2007.

DOPHEIDE, J. F. et al. Change of walking distance in intermittent claudication: impact on inflammation, oxidative stress and mononuclear cells: a pilot study. **Clinical Research in Cardiology**, v. 104, n. 9, p. 751-763, 2015.

DORMANDY, J.; HEECK, L.; VIG, S. The fate of patients with critical leg ischemia. **Seminars in Vascular Surgery**, v. 12, n. 2, p. 142-147, 1999.

DUSCHA, B. D. et al. Angiogenesis in skeletal muscle precede improvements in peak oxygen uptake in peripheral artery disease patients. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, n. 11, p. 2742-2748, 2011.

ERNST, E.; FIALKA, V. A review of the clinical effectiveness of exercise therapy for intermittent claudication. **Archives of Internal Medicine**, v. 153, n. 20, p. 2357-2360, 1993.

FAGARD, R. H.; CORNELISSEN, V. A. Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients. **The European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 12-17, 2007.

FERRARO, E. et al. Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: redox signaling and role of autophagy. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 21, n. 1, p. 154-176, 2014.

FLORAS, J. S. et al. Postexercise hypotension and sympathoinhibition in borderline hypertensive men. **Hypertension**, v. 14, n. 1, p. 28-35, 1989.

FONTAINE, R.; KIM, M.; KIENY, R. [Surgical treatment of peripheral circulation disorders]. **Helvetica Chirurgica Acta**, v. 21, n. 5-6, p. 499-533, 1954.

FORJAZ, C. L. et al. Postexercise hypotension and hemodynamics: the role of exercise intensity. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 44, n. 1, p. 54-62, 2004.

FORJAZ, C. L. et al. [Effect of exercise duration on the magnitude and duration of post-exercise hypotension]. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 2, p. 99-104, 1998.

GARCIA, L. A. Epidemiology and pathophysiology of lower extremity peripheral arterial disease. **Journal of Endovascular Therapy**, v. 13 Suppl 2, p. II3-9, 2006.

GARDNER, A. W. et al. Exercise rehabilitation improves functional outcomes and peripheral circulation in patients with intermittent claudication: a randomized controlled trial. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 49, n. 6, p. 755-762, 2001.

GARDNER, A. W. et al. Effects of long-term exercise rehabilitation on claudication distances in patients with peripheral arterial disease: a randomized controlled trial. **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation**, v. 22, n. 3, p. 192-198, 2002.

GARDNER, A. W. et al. Response to exercise rehabilitation in smoking and nonsmoking patients with intermittent claudication. **Journal of Vascular Surgery**, v. 39, n. 3, p. 531-538, 2004.

GARDNER, A. W.; MONTGOMERY, P. S. The effect of metabolic syndrome components on exercise performance in patients with intermittent claudication. **Journal of Vascular Surgery**, v. 47, n. 6, p. 1251-1258, 2008.

GARDNER, A. W. et al. Endothelial Cell Inflammation and Antioxidant Capacity are Associated With 6-Minute Walk Performance in Patients With Symptomatic Peripheral Artery Disease. **Angiology**, p. 3319717726934, 2017.

GARDNER, A. W. et al. Step-monitored home exercise improves ambulation, vascular function, and inflammation in symptomatic patients with peripheral artery disease: a randomized controlled trial. **Journal of the American Heart Association**, v. 3, n. 5, p. e001107, 2014.

GARDNER, A. W.; POEHLMAN, E. T. Exercise rehabilitation programs for the treatment of claudication pain. A meta-analysis. **The Journal of the American Medical Association**, v. 274, n. 12, p. 975-980, 1995.

GARDNER, A. W. et al. Progressive vs single-stage treadmill tests for evaluation of claudication. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 23, n. 4, p. 402-408, 1991.

GAWROŃSKA, B. et al. Markers of inflammation and influence of nitric oxide on platelet activation in the course of ulcerative colitis. **Oncotarget**, v. 8, n. 40, p. 68108-68114, 2017.

GERHARD-HERMAN, M. D. et al. 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**, v. 135, n. 12, p. e686-e725, 2017.

GLEESON, M.; MCFARLIN, B.; FLYNN, M. Exercise and Toll-like receptors. **Exercise Immunology Review**, v. 12, p. 34-53, 2006.

GOERNIG, M. et al. Peripheral arterial disease alters heart rate variability in cardiovascular patients. **Pacing and Clinical Electrophysiology**, v. 31, n. 7, p. 858-862, 2008.

GOKCE, N. et al. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 10, p. 1769-1775, 2003.

GOMEZ-CABRERA, M. C.; DOMENECH, E.; VINA, J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44, n. 2, p. 126-131, 2008.

GOMEZ-CABRERA, M. C.; VINA, J.; JI, L. L. Interplay of oxidants and antioxidants during exercise: implications for muscle health. **The Physician and Sportsmedicine**, v. 37, n. 4, p. 116-123, 2009.

GONCHAR, O. Muscle fiber specific antioxidative system adaptation to swim training in rats: influence of intermittent hypoxia. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 4, n. 2, p. 160-169, 2005.

GREEN, D. J. et al. Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. **Physiological Reviews**, v. 97, n. 2, p. 495-528, 2017.

GREISER, K. H. et al. Cardiovascular diseases, risk factors and short-term heart rate variability in an elderly general population: the CARLA study 2002-2006. **European Journal of Epidemiology**, v. 24, n. 3, p. 123-142, 2009.

GRENON, S. M. et al. Walking disability in patients with peripheral artery disease is associated with arterial endothelial function. **Journal of Vascular Surgery**, v. 59, n. 4, p. 1025-1034, 2014.

GRIZZO CUCATO, G. et al. Effects of walking and strength training on resting and exercise cardiovascular responses in patients with intermittent claudication. **Vasa** v. 40, n. 5, p. 390-397, 2011.

GUILLOT, M. et al. Oxidative stress precedes skeletal muscle mitochondrial dysfunction during experimental aortic cross-clamping but is not associated with early lung, heart, brain, liver, or kidney mitochondrial impairment. **Journal of Vascular Surgery**, , 2013.

HALLIWILL, J. R. et al. Postexercise hypotension and sustained postexercise vasodilatation: what happens after we exercise? **Experimental Physiology**, v. 98, n. 1, p. 7-18, 2013.

HALLIWILL, J. R.; TAYLOR, J. A.; ECKBERG, D. L. Impaired sympathetic vascular regulation in humans after acute dynamic exercise. **The Journal of Physiology**, v. 495 (Pt 1), p. 279-288, 1996.

HAMANN, J. J. et al. Vagus nerve stimulation improves left ventricular function in a canine model of chronic heart failure. **European Journal of Heart Failure**, v. 15, n. 12, p. 1319-1326, 2013.

HARRISON, D. G. et al. Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. **J Intern Med** v. 259, n. 4, p. 351–363, 2006

HAYNES, W. G.; WEBB, D. J. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. **Journal of Hypertension**, v. 16, n. 8, p. 1081-1098, 1998.

HE, F. et al. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 486, 2016.

HEADLEY, S. et al. Blood pressure response to acute and chronic exercise in chronic kidney disease. **Nephrology (Carlton)**, v. 22, n. 1, p. 72-78, 2017.

HECKSTEDEN, A.; GRUTTERS, T.; MEYER, T. Association between postexercise hypotension and long-term training-induced blood pressure reduction: a pilot study. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 23, n. 1, p. 58-63, 2013.

HEFFERNAN, K. S. et al. Arterial stiffness and baroreflex sensitivity following bouts of aerobic and resistance exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 28, n. 3, p. 197-203, 2007.

HIATT, W. R. et al. The evaluation of exercise performance in patients with peripheral vascular disease. **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation**, v. 8, n. 12, p. 525-532, 1988.

HIATT, W. R. et al. Effect of exercise training on skeletal muscle histology and metabolism in peripheral arterial disease. **Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 2, p. 780-788, 1996.

HICKEN, G. J.; LOSSING, A. G.; AMELI F, M. Assessment of generic health-related quality of life in patients with intermittent claudication. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 20, n. 4, p. 336-341, 2000.

HICKMAN, P.; MCCOLLUM, P. T.; BELCH, J. J. Neutrophils may contribute to the morbidity and mortality of claudicants. **British Journal of Surgery**, v. 81, n. 6, p. 790-798, 1994.

HIRSCH, A. T. et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. **The Journal of the American Medical Association**, v. 286, n. 11, p. 1317-1324, 2001.

HIRSCH, A. T. et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. **Circulation**, v. 113, n. 11, p. e463-654, 2006.

HOIER, B. et al. Pro- and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 3, p. 595-606, 2012.

HOU, X. Y. et al. Skeletal muscle mitochondrial ATP production rate and walking performance in peripheral arterial disease. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 22, n. 3, p. 226-232, 2002.

HUANG, A. L. et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, n. 10, p. 2113-2119, 2007.

HUSTON, J. M.; TRACEY, K. J. The pulse of inflammation: heart rate variability, the cholinergic anti-inflammatory pathway and implications for therapy. **Journal of Internal Medicine**, v. 269, n. 1, p. 45-53, 2011.

ISBELL, D. C. et al. Delayed calf muscle phosphocreatine recovery after exercise identifies peripheral arterial disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 47, n. 11, p. 2289-2295, 2006.

IZDEBSKA, E. et al. Effects of moderate physical training on blood pressure variability and hemodynamic pattern in mildly hypertensive subjects. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 55, n. 4, p. 713-724, 2004.

IZQUIERDO-PORRERA, A. M. et al. Effects of exercise rehabilitation on cardiovascular risk factors in older patients with peripheral arterial occlusive disease. **Journal of Vascular Surgery**, v. 31, n. 4, p. 670-677, 2000.

JAMES, D. V. et al. Heart rate variability: effect of exercise intensity on postexercise response. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, v. 83, n. 4, p. 533-539, 2012.

JANUSZEK, R. et al. Effect of treadmill training on endothelial function and walking abilities in patients with peripheral arterial disease. **Journal of Cardiology**, v. 64, n. 2, p. 145-151, 2014.

JELNES, R. et al. Fate in intermittent claudication: outcome and risk factors. **British Medical Journal (Clinical Research Ed.)**, v. 293, n. 6555, p. 1137-1140, 1986.

JOHNSTON, G. R.; WEBSTER, N. R. Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. **British Journal of Anaesthesia**, v. 102, n. 4, p. 453-462, 2009.

KANG, D. H.; KANG, S. W. Targeting Cellular Antioxidant Enzymes for Treating Atherosclerotic Vascular Disease. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 21, n. 2, p. 89-96, 2013.

KARIMI, H.; REHMAN, S. S. U.; GILLANI, S. A. Effects of Supervised Structured Aerobic Exercise Training Program on Interleukin-6, Nitric Oxide Synthase-1, and Cyclooxygenase-2 in Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 27, n. 6, p. 352-355, 2017.

KATZEL, L. I. et al. Comorbidities and exercise capacity in older patients with intermittent claudication. **Vascular Medicine**, v. 6, n. 3, p. 157-162, 2001.

KHAIRA, H. S. et al. Thromboxane and neutrophil changes following intermittent claudication suggest ischaemia-reperfusion injury. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 10, n. 1, p. 31-35, 1995.

KIRK, G. et al. Interleukin-8 (IL-8) may contribute to the activation of neutrophils in patients with peripheral arterial occlusive disease (PAOD). **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 18, n. 5, p. 434-438, 1999.

KONG, S. S. et al. Protection against ischemia-induced oxidative stress conferred by vagal stimulation in the rat heart: involvement of the AMPK-PKC pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 11, p. 14311-14325, 2012.

KOUTAKIS, P. et al. Oxidative damage in the gastrocnemius of patients with peripheral artery disease is myofiber type selective. **Redox Biology**, v. 2, p. 921-928, 2014.

KROGER, K. et al. Prevalence of peripheral arterial disease - results of the Heinz Nixdorf recall study. **European Journal of Epidemiology**, v. 21, n. 4, p. 279-285, 2006.

KRUIDENIER, L. M. et al. Predictors of walking distance after supervised exercise therapy in patients with intermittent claudication. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 38, n. 4, p. 449-455, 2009.

KU, E. et al. Patterns of blood pressure response during intensive BP lowering and clinical events: results from the secondary prevention of small subcortical strokes trial. **Blood Pressure**, , p. 1-9, 2017.

KUO, H. K.; YU, Y. H. The relation of peripheral arterial disease to leg force, gait speed, and functional dependence among older adults. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**, v. 63, n. 4, p. 384-390, 2008.

KWONG, L. K.; SOHAL, R. S. Substrate and site specificity of hydrogen peroxide generation in mouse mitochondria. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 350, n. 1, p. 118-126, 1998.

LA ROVERE, M. T. et al. Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction. **Circulation**, v. 106, n. 8, p. 945-949, 2002.

LAUER, M. S. Autonomic function and prognosis. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 76 Suppl 2, p. S18-22, 2009.

LEICHT, A. S.; CROWTHER, R. G.; GOLLEDGE, J. Influence of peripheral arterial disease and supervised walking on heart rate variability. **Journal of Vascular Surgery**, v. 54, n. 5, p. 1352-1359, 2011.

LENG, G. C. et al. Use of ankle brachial pressure index to predict cardiovascular events and death: a cohort study. **British Medical Journal**, v. 313, n. 7070, p. 1440-1444, 1996.

LIAO, F. et al. Genetic control of the inflammatory response induced by oxidized lipids. **American Journal of Cardiology**, v. 75, n. 6, p. 65B-66B, 1995.

LIMA, A. H. et al. Individual blood pressure responses to walking and resistance exercise in peripheral artery disease patients: Are the mean values describing what is happening? **Journal of Vascular Nursing**, v. 33, n. 4, p. 150-156, 2015.

LORENTSEN, E. Systemic arterial blood pressure during exercise in patients with atherosclerosis obliterans of the lower limbs. **Circulation**, v. 46, n. 2, p. 257-263, 1972.

LUCINI, D. et al. Effects of cardiac rehabilitation and exercise training on autonomic regulation in patients with coronary artery disease. **American Heart Journal**, v. 143, n. 6, p. 977-983, 2002.

LUNDGREN, F. et al. Intermittent claudication--surgical reconstruction or physical training? A prospective randomized trial of treatment efficiency. **Annals of Surgery**, v. 209, n. 3, p. 346-355, 1989.

LURJE, L. et al. Heart rate variability after acute myocardial infarction in patients treated with atenolol and metoprolol. **International Journal of Cardiology**, v. 60, n. 2, p. 157-164, 1997.

LUTTRELL, M. J.; HALLIWILL, J. R. Recovery from exercise: vulnerable state, window of opportunity, or crystal ball? **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 204, 2015.

MADDEN, K. M. et al. Aerobic training restores arterial baroreflex sensitivity in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 20, n. 4, p. 312-317, 2010.

MAKDISSE, M. et al. Prevalence and risk factors associated with peripheral arterial disease in the Hearts of Brazil Project. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, n. 6, p. 370-382, 2008.

MALFATTO, G. et al. Short and long term effects of exercise training on the tonic autonomic modulation of heart rate variability after myocardial infarction. **European Heart Journal**, v. 17, n. 4, p. 532-538, 1996.

MANFREDINI, F. et al. Training rather than walking: the test in -train out program for home-based rehabilitation in peripheral arteriopathy. **Circ J** v. 72, n. 6, p. 946-952, 2008.

MARTINMAKI, K. et al. Effect of low-dose endurance training on heart rate variability at rest and during an incremental maximal exercise test. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 3, p. 541-548, 2008.

MCDERMOTT, M. M. et al. Treadmill exercise and resistance training in patients with peripheral arterial disease with and without intermittent claudication: a randomized controlled trial. **The Journal of the American Medical Association**, v. 301, n. 2, p. 165-174, 2009.

MCDERMOTT, M. M. et al. Leg strength in peripheral arterial disease: associations with disease severity and lower-extremity performance. **Journal of Vascular Surgery**, v. 39, n. 3, p. 523-530, 2004.

MCDERMOTT, M. M. et al. D-dimer, inflammatory markers, and lower extremity functioning in patients with and without peripheral arterial disease. **Circulation**, v. 107, n. 25, p. 3191-3198, 2003.

MCDERMOTT, M. M.; MEHTA, S.; GREENLAND, P. Exertional leg symptoms other than intermittent claudication are common in peripheral arterial disease. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 4, p. 387-392, 1999.

MCDERMOTT, M. M. et al. Associations between lower extremity ischemia, upper and lower extremity strength, and functional impairment with peripheral arterial disease. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 56, n. 4, p. 724-729, 2008.

MCDERMOTT, M. M. et al. Prognostic value of functional performance for mortality in patients with peripheral artery disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, n. 15, p. 1482-1489, 2008.

MEDEIROS-LIMA, D. J. et al. Erythrocyte nitric oxide availability and oxidative stress following exercise. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 65, n. 3, p. 219-228, 2017.

MEIJER, W. T. et al. Peripheral arterial disease in the elderly: The Rotterdam Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 18, n. 2, p. 185-192, 1998.

MENESES, A. L. et al. Impact of a supervised strength training or walking training over a subsequent unsupervised therapy period on walking capacity in patients with claudication. **Journal of Vascular Nursing**, v. 29, n. 2, p. 81-86, 2011.

MICHAEL, S. et al. Higher exercise intensity delays postexercise recovery of impedance-derived cardiac sympathetic activity. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, n. 8, p. 834-840, 2017.

MIKA, P. et al. Comparison of two treadmill training programs on walking ability and endothelial function in intermittent claudication. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 2, p. 838-842, 2013.

MILLER, Y. I. et al. Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors. **Current Opinion in Lipidology**, v. 14, n. 5, p. 437-445, 2003.

MINUZZI, L. G. et al. Acute Hematological and Inflammatory Responses to High-intensity Exercise Tests: Impact of Duration and Mode of Exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 7, p. 551-559, 2017.

MITTERMAYER, F. et al. Asymmetric dimethylarginine predicts major adverse cardiovascular events in patients with advanced peripheral artery disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 11, p. 2536-2540, 2006.

MOHER, D.; SCHULZ, K. F.; ALTMAN, D. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomized trials. **Journal of the American Medical Association**, v. 285, n. 15, p. 1987-1991, 2001.

MUNGER, M. A.; HAWKINS, D. W. Atherothrombosis: epidemiology, pathophysiology, and prevention. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 44, n. 2 Suppl 1, p. S5-12; quiz S12-13, 2004.

NAWAZ, S. et al. The inflammatory response to upper and lower limb exercise and the effects of exercise training in patients with claudication. **Journal of Vascular Surgery**, v. 33, n. 2, p. 392-399, 2001.

NEUMANN, F. J. et al. Activation and decreased deformability of neutrophils after intermittent claudication. **Circulation**, v. 82, n. 3, p. 922-929, 1990.

NG, P. W. et al. Intermittent claudication: exercise-increased walking distance is not related to improved cardiopulmonary fitness. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 30, n. 4, p. 391-394, 2005.

NIEMELA, T. H. et al. Recovery pattern of baroreflex sensitivity after exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 5, p. 864-870, 2008.

NORGREN, L. et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 33 Suppl 1, p. S1-75, 2007.

NOWAK, W. N. et al. Exercise training in intermittent claudication: effects on antioxidant genes, inflammatory mediators and proangiogenic progenitor cells. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 108, n. 5, p. 824-831, 2012.

NYBERG, M. et al. Leg vascular and skeletal muscle mitochondrial adaptations to aerobic high-intensity exercise training are enhanced in the early postmenopausal phase. **The Journal of Physiology**, v. 595, n. 9, p. 2969-2983, 2017.

NYLAENDE, M. et al. Markers of vascular inflammation are associated with the extent of atherosclerosis assessed as angiographic score and treadmill walking distances in patients with peripheral arterial occlusive disease. **Vascular Medicine**, v. 11, n. 1, p. 21-28, 2006.

ODUTAYO, A. et al. Atrial fibrillation and risks of cardiovascular disease, renal disease, and death: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 354, p. i4482, 2016.

OGREN, M. et al. Leg blood flow and long-term cardiovascular prognosis in men with typical and atypical intermittent claudication. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 26, n. 3, p. 272-279, 2003.

PALMER-KAZEN, U.; RELIGA, P.; WAHLBERG, E. Exercise in patients with intermittent claudication elicits signs of inflammation and angiogenesis. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 38, n. 6, p. 689-696, 2009.

PECANHA, T. et al. Metaboreflex activation delays heart rate recovery after aerobic exercise in never-treated hypertensive men. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 21, p. 6211-6223, 2016.

PECANHA, T.; SILVA-JUNIOR, N. D.; FORJAZ, C. L. Heart rate recovery: autonomic determinants, methods of assessment and association with mortality and cardiovascular diseases. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 34, n. 5, p. 327-339, 2014.

PERINI, R. et al. Aerobic training and cardiovascular responses at rest and during exercise in older men and women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, n. 4, p. 700-708, 2002.

PIPINOS, II et al. The myopathy of peripheral arterial occlusive disease: part 1. Functional and histomorphological changes and evidence for mitochondrial dysfunction. **Vascular and Endovascular Surgery**, v. 41, n. 6, p. 481-489, 2007.

PIPINOS, II et al. Mitochondrial defects and oxidative damage in patients with peripheral arterial disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 41, n. 2, p. 262-269, 2006.

PIPINOS, II et al. Phosphorus 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy suggests a mitochondrial defect in claudicating skeletal muscle. **Journal of Vascular Surgery**, v. 31, n. 5, p. 944-952, 2000.

POWERS, S. K. et al. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. **American Journal of Cardiology**, v. 266, n. 2 Pt 2, p. R375-380, 1994.

PUGA, G. M. et al. Combined effects of aerobic exercise and l-arginine ingestion on blood pressure in normotensive postmenopausal women: A crossover study. **Life Sciences**, v. 151, p. 323-329, 2016.

RACZAK, G. et al. Cardiovagal response to acute mild exercise in young healthy subjects. **Circulation Journal**, v. 69, n. 8, p. 976-980, 2005.

RADAK, Z. et al. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 10, p. 1208-1246, 2013.

RAIMUNDO, R. D. et al. Heart rate variability in stroke patients submitted to an acute bout of aerobic exercise. **Translational Stroke Research**, v. 4, n. 5, p. 488-499, 2013.

REGENSTEINER, J. G. et al. Chronic changes in skeletal muscle histology and function in peripheral arterial disease. **Circulation**, v. 87, n. 2, p. 413-421, 1993.

RIDKER, P. M. Role of inflammatory biomarkers in prediction of coronary heart disease. **Lancet**, v. 358, n. 9286, p. 946-948, 2001.

RITTI-DIAS, R. M. et al. Strength training increases walking tolerance in intermittent claudication patients: randomized trial. **Journal of Vascular Surgery**, v. 51, n. 1, p. 89-95, 2010.

ROBERTS, A. J. et al. Physiological and functional impact of an unsupervised but supported exercise programme for claudicants. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 36, n. 3, p. 319-324, 2008.

RODRIGUES, L. B. et al. A single bout of resistance exercise does not modify cardiovascular responses during daily activities in patients with peripheral artery disease. **Blood Pressure Monitoring**, , 2014.

ROSS, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 2, p. 115-126, 1999.

RUECKERT, P. A. et al. Hemodynamic patterns and duration of post-dynamic exercise hypotension in hypertensive humans. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 28, n. 1, p. 24-32, 1996.

SAETRE, T. et al. Supervised exercise training reduces plasma levels of the endothelial inflammatory markers E-selectin and ICAM-I in patients with peripheral arterial disease. **Angiology** v. 62, n. 4, p. 301-305, 2011.

SAKAMOTO, S. et al. Patients with peripheral artery disease who complete 12-week supervised exercise training program show reduced cardiovascular mortality and morbidity. **Circ J** v. 73, n. 1, p. 167-173, 2009.

SANDERCOCK, G. R. et al. The impact of short term supervised and home-based walking programmes on heart rate variability in patients with peripheral arterial disease. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 6, n. 4, p. 471-476, 2007.

SARAIVA, M.; O'GARRA, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 3, p. 170-181, 2010.

SCHEELE, C.; NIELSEN, S.; PEDERSEN, B. K. ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 95-99, 2009.

SCHLAGER, O. et al. Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric dimethylarginine in peripheral arterial disease: a randomized controlled trial. **Atherosclerosis**, v. 217, n. 1, p. 240-248, 2011.

SCHLAGER, O. et al. Impact of exercise training on inflammation and platelet activation in patients with intermittent claudication. **Swiss Medical Weekly**, v. 142, p. w13623, 2012.

SCHUIT, A. J. et al. Exercise training and heart rate variability in older people. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 31, n. 6, p. 816-821, 1999.

SCOTT, H. A. et al. Acute exercise is associated with reduced exhaled nitric oxide in physically inactive adults with asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 114, n. 6, p. 470-479, 2015.

SELVIN, E.; ERLINGER, T. P. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. **Circulation**, v. 110, n. 6, p. 738-743, 2004.

SHEN, M. J.; ZIPES, D. P. Role of the autonomic nervous system in modulating cardiac arrhythmias. **Circulation Research**, v. 114, n. 6, p. 1004-1021, 2014.

SHIN, K. et al. Assessment of training-induced autonomic adaptations in athletes with spectral analysis of cardiovascular variability signals. **The Japanese Journal of Physiology**, v. 45, n. 6, p. 1053-1069, 1995.

SIBAL, L. et al. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. **Current Cardiology Reviews**, v. 6, n. 2, p. 82-90, 2010.

SIGNORELLI, S. S. et al. High circulating levels of cytokines (IL-6 and TNFalpha), adhesion molecules (VCAM-1 and ICAM-1) and selectins in patients with peripheral arterial disease at rest and after a treadmill test. **Vascular Medicine**, v. 8, n. 1, p. 15-19, 2003.

SILVESTRO, A. et al. Adhesion molecules and cardiovascular risk in peripheral arterial disease. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 improves risk stratification. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 93, n. 3, p. 559-563, 2005.

SILVESTRO, A. et al. Vitamin C prevents endothelial dysfunction induced by acute exercise in patients with intermittent claudication. **Atherosclerosis**, v. 165, n. 2, p. 277-283, 2002.

SILVESTRO, A. et al. Inflammatory status and endothelial function in asymptomatic and symptomatic peripheral arterial disease. **Vascular Medicine**, v. 8, n. 4, p. 225-232, 2003.

SITI HAWA, N.; YUSOF, K.; KAMSIAH, J. The Role of Oxidative Stress, Antioxidants and Vascular Inflammation in Cardiovascular Disease (A Review). **Vascular Pharmacology**, v. 71, p. 40-56, 2015.

SLOAN, R. P. et al. Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 3, p. 1007-1011, 2007.

SMITH, M. L. et al. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 21, n. 1, p. 40-44, 1989.

SMOLENSKY, M. H.; HERMIDA, R. C.; PORTALUPPI, F. Circadian mechanisms of 24-hour blood pressure regulation and patterning. **Sleep Medicine Reviews**, v. 33, p. 4-16, 2017.

SPRONK, S. et al. Impact of claudication and its treatment on quality of life. **Seminars in Vascular Surgery**, v. 20, n. 1, p. 3-9, 2007.

ST-PIERRE, J. et al. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 47, p. 44784-44790, 2002.

STARKIE, R. et al. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. **The FASEB Journal**, v. 17, n. 8, p. 884-886, 2003.

STEINBERG, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 34, p. 20963-20966, 1997.

STEWART, K. J. et al. Exercise training for claudication. **The New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 24, p. 1941-1951, 2002.

STEWART, L. K. et al. Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 19, n. 5, p. 389-397, 2005.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F., JR. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 4, p. 1381-1478, 2004.

SUN, P. et al. Autonomic Recovery Is Delayed in Chinese Compared with Caucasian following Treadmill Exercise. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0147104, 2016.

TAN, K. H.; DE COSSART, L.; EDWARDS, P. R. Exercise training and peripheral vascular disease. **British Journal of Surgery**, v. 87, n. 5, p. 553-562, 2000.

TASK FORCE. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Circulation**, v. 93, n. 5, p. 1043-1065, 1996.

THIYAGARAJAN, R. et al. Association between cardiac autonomic function, oxidative stress and inflammatory response in impaired fasting glucose subjects: cross-sectional study. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41889, 2012.

TIBANA, R. A. et al. Correlation between acute and chronic 24-hour blood pressure response to resistance training in adult women. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 1, p. 82-89, 2015.

TIMMERMAN, K. L. et al. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+CD16+) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? **Journal of Leukocyte Biology**, v. 84, n. 5, p. 1271-1278, 2008.

TISI, P. V. et al. Exercise training for intermittent claudication: does it adversely affect biochemical markers of the exercise-induced inflammatory response? **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 14, n. 5, p. 344-350, 1997.

TISI, P. V.; SHEARMAN, C. P. The evidence for exercise-induced inflammation in intermittent claudication: should we encourage patients to stop walking? **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 15, n. 1, p. 7-17, 1998.

TONKIN, A. M.; CHEN, L. Where on the healthcare continuum should we invest? The case for primary care? **Heart, Lung and Circulation**, v. 18, n. 2, p. 108-113, 2009.

TRUCCOLO, A. B. et al. Association between endothelial function and autonomic modulation in patients with Chagas disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 2, p. 135-140, 2013.

TSAI, M. W. et al. Effects of exercise training on heart rate variability after coronary angioplasty. **Physical Therapy**, v. 86, n. 5, p. 626-635, 2006.

TSUKIYAMA, Y. et al. Effects of exercise training on nitric oxide, blood pressure and antioxidant enzymes. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 60, n. 3, p. 180-186, 2017.

TURRENS, J. F. et al. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemic tissues. **Free Radical Research Communications**, v. 12-13 Pt 2, p. 681-689, 1991.

TURTON, E. P. et al. Exercise training reduces the acute inflammatory response associated with claudication. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 23, n. 4, p. 309-316, 2002.

TURTON, E. P. et al. Exercise-induced neutrophil activation in claudicants: a physiological or pathological response to exhaustive exercise? **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 16, n. 3, p. 192-196, 1998.

VAN SCHAARDENBURGH, M. et al. Exercise in claudicants increase or decrease walking ability and the response relates to mitochondrial function. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, p. 130, 2017.

VERHEYDEN, B. et al. Low-dose exercise training does not influence cardiac autonomic control in healthy sedentary men aged 55-75 years. **Journal of Sports Sciences**, v. 24, n. 11, p. 1137-1147, 2006.

VERMA, S. et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. **Circulation**, v. 106, n. 8, p. 913-919, 2002.

VIDULA, H. et al. Biomarkers of inflammation and thrombosis as predictors of near-term mortality in patients with peripheral arterial disease: a cohort study. **Annals of Internal Medicine**, v. 148, n. 2, p. 85-93, 2008.

VOGL, L. et al. Serum concentrations of L-arginine and L-homoarginine in male patients with intermittent claudication: a cross-sectional and prospective investigation in the CAVASIC Study. **Atherosclerosis**, v. 239, n. 2, p. 607-614, 2015.

VON KANEL, R. et al. Heart rate variability and biomarkers of systemic inflammation in patients with stable coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. **Clinical Research in Cardiology**, v. 100, n. 3, p. 241-247, 2011.

WEITZ, J. I. et al. Diagnosis and treatment of chronic arterial insufficiency of the lower extremities: a critical review. **Circulation**, v. 94, n. 11, p. 3026-3049, 1996.

WILDMAN, R. P. et al. Relation of inflammation to peripheral arterial disease in the national health and nutrition examination survey, 1999-2002. **American Journal of Cardiology**, v. 96, n. 11, p. 1579-1583, 2005.

WILSON, A. M. et al. Asymmetric dimethylarginine correlates with measures of disease severity, major adverse cardiovascular events and all-cause mortality in patients with peripheral arterial disease. **Vascular Medicine**, v. 15, n. 4, p. 267-274, 2010.

WOOD, R. E. et al. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. **Clinical Science (Lond)**, v. 111, n. 6, p. 401-409, 2006.

YAVARI, A. et al. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. **Asian Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 1, p. e24898, 2015.

YAYAN, J. Emerging families of biomarkers for coronary artery disease: inflammatory mediators. **Vascular Health and Risk Management**, v. 9, p. 435-456, 2013.

YU, E.; MERCER, J.; BENNETT, M. Mitochondria in vascular disease. **Cardiovascular Research**, v. 95, n. 2, p. 173-182, 2012.

ZAHARIEVA, D. P.; RIDDELL, M. C. Insulin Management Strategies for Exercise in Diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 41, n. 5, p. 507-516, 2017.

ANEXO – Aprovação do Comitê de Ética da Escola de Educação Física Esporte

ESCOLA DE EDUCAÇÃO
FÍSICA E ESPORTE DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TREINAMENTO DE CAMINHADA NA CLAUDICAÇÃO INTERMITENTE: RESPOSTAS FUNCIONAIS, HEMODINÂMICAS, AUTONÔMICAS, INFLAMATÓRIAS, DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE REGULAÇÃO GENÉTICA EM REPOUSO E APÓS O EXERCÍCIO AGUDO

Pesquisador: CLAUDIA LUCIA DE MORAES FORJAZ

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 30187014.0.0000.5391

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 667.382

Data da Relatoria: 29/05/2014

Apresentação do Projeto:

O presente estudo pretende avaliar a resposta aguda e crônica do exercício em marcadores cardiovasculares, inflamatórios e de expressão gênica em pacientes com claudicação intermitente. Serão envolvidos no estudo 30 pacientes e 15 controles saudáveis.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a resposta aguda de uma sessão de exercício máximo e submáximo e o efeito do treinamento de caminhada, no repouso e durante o exercício físico máximo e submáximo, sobre a capacidade funcional, variáveis hemodinâmicas, autonômicas, endoteliais, inflamatórias, de estresse oxidativo, metabólicas e sobre a expressão gênica de miRNAs, em pacientes com claudicação intermitente.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já avaliado em relato anterior

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65

Bairro:

CEP: 06.757-060

UF: SP

Município:

Telefone: (113)091-3097

Fax: (113)812-4141

E-mail: cep39@usp.br

ESCOLA DE EDUCAÇÃO
FÍSICA E ESPORTE DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 667.382

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme evidenciado em relato anterior, o estudo está bem desenhado, apresenta fundamentação científica relevante e pretende avaliar possíveis mecanismos envolvidos nas respostas e adaptações promovidas pelo exercício em pacientes com claudicação intermitente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As pendências apontadas em relato anterior foram atendidas.

Recomendações:

Pela aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A solicitação de adequações no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi atendida.

Foi informado no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido o risco da avaliação ergoespirométrica máxima e da biópsia muscular.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer aprovado na reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo realizada em 29/05/2014.

29 de Maio de 2014

Assinado por:

Maria Augusta Peduti Dal'Molin Kiss
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65

Bairro:

CEP: 06.757-060

UF: SP

Município:

Telefone: (113)091--3097

Fax: (113)812--4141

E-mail: cep39@usp.br