

Lígia de Moraes Antunes-Corrêa

***Efeito do treinamento físico no controle mecanorreflexo e
metaborreflexo da atividade nervosa simpática muscular em
pacientes com insuficiência cardíaca***

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

Programa de Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Antunes-Corrêa, Lígia de Moraes

Efeito do treinamento físico no controle mecanorreflexo e metaborreflexo da atividade nervosa simpática muscular em pacientes com insuficiência cardíaca / Lígia de Moraes Antunes Corrêa. -- São Paulo, 2013.

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

Orientador: Carlos Eduardo Negrão.

Descritores: 1.Insuficiência cardíaca 2.Exercício 3.Sistema nervoso simpático/fisiopatologia 4.Mecanorreceptores 5.Músculo esquelético/fisiopatologia 6.Ciclo-oxigenase 2 7. Canais de cátion TRPV

USP/FM/DBD-120/13

DEDICATÓRIA

*Dedico esta tese aos meus amados pais **Milton e Léia**, que carinhosa e sabiamente me educaram e apoiaram durante todos os anos da minha vida. Ao meu querido irmão **Eduardo**, pelo carinho, amizade e companheirismo de sempre. Ao meu amor **Mario Eduardo**, por sua paciência nos momentos difíceis, por seus cuidados de todas as horas, e acima de tudo, por me tornar uma pessoa mais feliz durante todos esses anos juntos. Muito obrigada por acreditarem em mim e por não medirem esforços para me incentivar nesta trajetória!*

AGRADECIMENTOS

*Agradeço ao meu orientador **Carlos Eduardo Negrão** pela confiança e pelos ensinamentos durante todos esses anos de trabalho. Seu exemplo de dedicação, ética e profissionalismo tem sido uma inspiração para minha vida acadêmico/científica. Muito obrigada pela sua orientação!*

*Às professoras **Maria Urbana P. B. Rondon e Ivani C. Trombetta** pelos ensinamentos, pela colaboração, e por todo o incentivo neste e em outros projetos de pesquisa desenvolvidos na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício. Muito obrigada por tudo!*

*Às doutoras **Maria Janieire N. N. Alves, Patrícia Oliveira, Ana Maria W. Braga, Marta F. Lima** e ao doutor **Guilherme Barreto** pela colaboração na execução dos exames e no acompanhamento dos pacientes durante esses anos. A colaboração de vocês foi fundamental!*

*Às professoras **Edilamar M. Oliveira, Luciana V. Rossoni e Patrícia C. Brum** pelos ensinamentos, sugestões e colaborações que permitiram o desenvolvimento deste projeto com sucesso. Meu sincero obrigado!*

*Às minhas companheiras de pós-graduação **Thaís S. Nobre e Raphaela V. Groehs** por toda a colaboração no dia a dia, e acima de tudo, pela amizade que construímos durante esses anos de trabalho em conjunto. Amigas, obrigada por tornar esta caminhada mais divertida!*

*Ao **Tiago Fernandes** por toda sua paciência e dedicação em me ajudar e ensinar as análises de expressão gênica muscular. A sua colaboração foi essencial para a finalização desta tese. Muito obrigada por tudo!*

*Ao **Gisele K. Couto** por toda sua disposição e colaboração com as análises musculares. Obrigada!*

*Às doutoras **Ruth C. Melo e Luísa Soares Miranda**, e aos doutores **Mateus C. Laterza, Daniel G. Martinez e Edgar T. Dias** pelo exemplo de dedicação e por tudo que aprendi e aprendo com vocês. Muito obrigada!*

*Aos amigos que fiz na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício **Igor L. G. Santos, Larissa F. dos Santos e Felipe X. Cepeda** pelo convívio profissional, pelas conversas na hora do café e pelo famoso “Happy Hour”. Obrigada!*

*Aos meus colegas de trabalho **Camila P. Jordão, Camila V Teixeira, Luciene F. Azevedo, Marcelo Rodrigues, Adriana Sarmiento, Patrícia Trevizan, Denise Lobo e Daniela Agostinho** e a todos os colegas e aprimorandos da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício pela troca de conhecimento diária, pela boa convivência e pelos bons momentos dentro e fora do trabalho. Vocês são ótimos!*

*Às secretárias **Mônica Marques, Sandra Sino e Mari Santos** por toda a colaboração nesses anos de trabalho. Obrigada por tudo!*

*Aos doutores **Charles Mady, Alfredo J. Mansur e Dirceu R. Almeida** pela colaboração fundamental na triagem e seleção dos pacientes. Obrigada!*

*Ao **CNPq** (Bolsa de doutorado: 142366/2009-9) e a **Fapesp** (Projeto temático: 2010/50048-1) pelo apoio financeiro que permitiram o desenvolvimento deste projeto.*

*Ao **Instituto do Coração (HC-FMUSP)** pela estrutura acadêmico/científica que proporcionou o meu crescimento profissional durante estes anos. Um agradecimento especial aos professores das disciplinas do programa de Cardiologia!*

*Especialmente, agradeço **aos pacientes** que voluntariamente concordaram em participar do protocolo de pesquisa, permitindo a conclusão da minha tese de doutorado.*

*“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é
alguém que acredite que ele possa ser realizado.”*

Roberto Shinyashiki

*“A verdadeira viagem do
descobrimento não consiste em procurar novas paisagens
e sim em ter novos olhos”.*

Marcel Proust

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

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

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

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivos Primários	13
2.2 Objetivos Secundários	13
3. MÉTODOS.....	14
3.1 Amostra	15
3.2 Desenho do estudo.....	16
3.3 Avaliação da Função Cardíaca	17
3.4 Avaliação da Capacidade Funcional.....	17
3.5 Avaliação da Atividade Nervosa Simpática	19
3.6 Avaliação do Fluxo Sanguíneo Muscular.....	20
3.7 Avaliação da Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca	21
3.8 Protocolo Experimental para Avaliação do Controle Mecanorreflexo Muscular	21
3.9 Protocolo Experimental para Avaliação do Controle Metaborreflexo Muscular	23
3.10 Biópsia do Músculo Esquelético	24
3.11 Avaliação da Expressão Gênica	26
3.11.1 Extração do RNA total	26
3.11.2 Transcrição Reversa (síntese de cDNA)	27
3.11.3 Reação de Polimerase em Cadeia de Tempo Real (PCR em tempo real)	27
3.12 Protocolo de Treinamento Físico.....	29
3.13 Análise Estatística	29

4. RESULTADOS	31
4.1 Características Pré-Intervenção	32
4.1.1 Características Físicas e Clínicas	32
4.1.2 Função Cardíaca, Parâmetros Hemodinâmicos e Neurovasculares e Capacidade Funcional	33
4.1.3 Sensibilidade Mecanorreflexo	35
4.1.4 Sensibilidade Metaborreflexa	38
4.2 Efeitos do Treinamento Físico	40
4.2.1 Função Cardíaca, Parâmetros Hemodinâmicos e Neurovasculares e Capacidade Funcional	40
4.2.2 Sensibilidade Mecanorreflexa	42
4.2.3 Sensibilidade Metaborreflexa	46
4.3 Associação entre a Atividade Nervosa Simpática em Repouso e a Sensibilidade Mecanorreflexa e Metaborreflexa.	49
4.4 Expressão Gênica da Via das Ciclooxygenases	50
4.5 Expressão Gênica dos Receptores TRPV1 e CB	55
5. DISCUSSÃO	57
5.1 Implicações Clínicas	64
5.2 Limitações	64
6. CONCLUSÃO	66
7. REFERÊNCIAS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da via das ciclooxigenases.....	6
Figura 2. Esquema de localização e ativação dos receptores TRPV1 e CB1.....	10
Figura 3. Planejamento experimental.....	16
Figura 4. Exemplo de avaliação da fração de ejeção por ecocardiografia pelo método de Simpson.....	17
Figura 5. Teste cardiopulmonar em esforço realizado em ciclo ergômetro, com protocolo em rampa.	18
Figura 6. Avaliação da atividade nervosa simpática por microneurografia.	19
Figura 7. Avaliação do fluxo sanguíneo muscular por pletismografia de oclusão venosa.	20
Figura 8. Avaliação da pressão arterial e da frequência cardíaca a cada batimento cardíaco por método não invasivo.	21
Figura 9. Avaliação do controle mecanorreflexo muscular.	22
Figura 10. Avaliação do controle metaborreflexo muscular.	24
Figura 11. Biopsia muscular do vasto-lateral.....	25
Figura 12. Treinamento Físico na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício.	29

Figura 13. Sensibilidade mecanorreflexa individual, avaliada pela diferença entre o valor absoluto no pico do exercício passivo e o valor absoluto basal, em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=17) e treinados (ICT, n=17).....	44
Figura 14. Sensibilidade metaborreflexa individual, avaliada pela diferença entre o valor absoluto do 1º min de oclusão circulatória pós-exercício e o valor basal, em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=17) e treinados (ICT, n=17).....	48
Figura 15. Expressão gênica das enzimas COX-1(A) e COX-2 (B) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).....	51
Figura 16. Expressão gênica das enzimas mPGES (A), PGIS (B) e TXAS (C) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).....	52
Figura 17. Expressão gênica dos receptores EP ₁ (A), EP ₂ (B), EP ₃ (C) e EP ₄ (D) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).....	54
Figura 18. Expressão gênica do receptor IP no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).....	54
Figura 19. Expressão gênica do receptor TP no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).....	55

Figura 20. Expressão gênica do receptor TRPV1 no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12)..... 56

Figura 21. Expressão gênica do receptor CB1 no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12)..... 56

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Primers para análise da expressão gênica por PCR em tempo real. 28
- Tabela 2.** Características físicas e clínicas dos pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados..... 32
- Tabela 3.** Função cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, capacidade funcional e parâmetros neurovasculares, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção. 34
- Tabela 4.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela diferença (Δ) absoluta do 3º min de exercício passivo e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.. 36
- Tabela 5.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante a estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela área sob a curva durante os três minutos de exercício passivo, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção. 37
- Tabela 6.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos metaborreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 1º min de oclusão circulatória e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.. 39
- Tabela 7.** Função cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, capacidade funcional e parâmetros neurovasculares em pacientes treinados e não treinados.. 41

- Tabela 8.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 3º min de exercício passivo e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados. 43
- Tabela 9.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela área sob a curva durante os três minutos de exercício passivo, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados..... 45
- Tabela 10.** Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante estimulação dos metaborreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 1º min oclusão circulatória e a média basal, em pacientes treinados e não treinados..... 47
- Tabela 11.** Associação entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso e na sensibilidade mecanorreflexa, após seguimento clínico e treinamento físico, em pacientes com insuficiência cardíaca..... 49
- Tabela 12.** Associação entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso e na sensibilidade metaborreflexa muscular, após seguimento clínico e treinamento físico, em pacientes com insuficiência cardíaca... 50

RESUMO

Antunes-Correa LM. Efeito do treinamento físico no controle mecanorreflexo e metaborreflexo da atividade nervosa simpática muscular em pacientes com insuficiência cardíaca [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução. A hiperativação nervosa simpática é característica marcante da insuficiência cardíaca. Estudos apontam alterações no controle ergorreflexo muscular (mecano e metaborreflexo) como mecanismos potenciais para explicar esta modificação autonômica. Os mecanorreceptores (fibras do grupo III), que são ativadas pelo aumento no tônus muscular e modulados por metabólitos da via das ciclooxigenases, encontram-se hipersensibilizadas na insuficiência cardíaca. Ao contrário, a sensibilidade dos metaborreceptores (fibras do grupo IV), que são ativados pelo acúmulo de metabólitos durante as contrações musculares e modulados pelos receptores TRPV1 e CB1, encontra-se diminuída na insuficiência cardíaca. Por outro lado, o treinamento físico tem se mostrado uma importante ferramenta no tratamento da insuficiência cardíaca. Ele reduz os níveis de atividade nervosa simpática muscular (ANSM) no repouso e durante o exercício em pacientes portadores desta síndrome. Dessa forma, neste estudo, nós testamos a hipótese de que o treinamento físico melhoraria o controle mecano e metaborreflexo da ANSM em pacientes com insuficiência cardíaca, e se essa melhora está associada às alterações na via das ciclooxigenases e na expressão dos receptores TRPV1 e CB1, respectivamente. **Métodos.** Pacientes com insuficiência cardíaca foram consecutivamente e aleatoriamente divididos em dois grupos: insuficiência cardíaca não treinado (ICNT, n=17) e insuficiência cardíaca treinado (ICT, n=17). A ANSM foi avaliada pela técnica de microneurografia e o fluxo sanguíneo muscular (FSM) pela pletismografia de oclusão venosa. A frequência cardíaca (FC) e a pressão arterial (PA) foram avaliadas por medida não invasiva a cada batimento (Finometer). Foi realizada biópsia muscular do vasto lateral para análise de expressão gênica. O treinamento físico aeróbio foi realizado em ciclo ergômetro, em intensidade moderada, por 40 minutos, três vezes por semana, durante 16 semanas. A sensibilidade mecanorreflexa foi calculada pelo delta absoluto entre o pico do exercício passivo, realizado na perna

esquerda, e a média do registro basal. A sensibilidade metaborreflexa foi calculada pelo delta absoluto entre o 1º minuto de oclusão circulatória pós-exercício na perna esquerda e a média do registro basal. **Resultados.** O treinamento físico reduziu a ANSM e aumentou o FSM no repouso. O treinamento físico diminuiu significativamente as respostas de ANSM durante o exercício passivo no grupo ICT. As repostas de PA média também foram menores no grupo ICT quando comparado ao grupo ICNT. Não houve alterações significativas nas repostas de FC, PA sistólica, PA diastólica e FSM durante o exercício passivo no grupo ICT. Em relação à sensibilidade metaborreflexa, o treinamento físico aumentou expressivamente as respostas de ANSM no 1º minuto de oclusão circulatória no grupo ICT. As respostas de FC, PA e FSM não foram alteradas neste grupo. Não foram observadas alterações significativas nos controles mecano e metaborreflexo musculares no grupo ICNT. Além disso, o treinamento físico reduziu significativamente a expressão gênica da enzima COX-2 e do receptor EP₄ e aumentou significativamente a expressão dos receptores TRPV1 e CB1 no grupo ICT. Não foram verificadas alterações significativas nas expressões gênicas do grupo ICNT. **Conclusões.** O treinamento físico normaliza os controles mecano e metaborreflexo da ANSM em pacientes com insuficiência cardíaca. Estas alterações podem estar associadas às alterações na expressão gênica da enzima COX-2 e receptor EP₄, e dos receptores TRPV1 e CB1, respectivamente. Em conjunto, estes achados podem explicar, pelo menos em parte, a diminuição da atividade nervosa simpática e a melhora na tolerância aos esforços em pacientes com insuficiência cardíaca.

Descritores: Insuficiência cardíaca; Exercício; Sistema nervoso simpático/fisiopatologia; Mecanorreceptores; Músculo esquelético/fisiopatologia; Ciclo-oxigenase 2; Canais de cátion TRPV.

SUMMARY

Antunes-Correa LM. Effects of exercise training on mechanoreflex and metaboreflex control of muscle sympathetic nerve activity in heart failure patients. [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Introduction. Sympathoexcitation is the hallmark of heart failure. Studies suggest changes in ergoreflex muscle control (mechanoreflex and metaboreflex) as potential mechanisms to explain this autonomic alteration in heart failure. Mechanoreceptors (group III fibers) that are activated by mechanical stimuli and modulated by cyclooxygenase pathway metabolites are hypersensitive in heart failure. In contrast, the sensitivity of metaboreceptors fibers (group IV) that are activated by increases in ischemic metabolites during muscle contractions and modulated by TRPV1 and CB1 receptors is blunted in heart failure. On the other hands, exercise training has been shown to be an important strategy in the treatment of heart failure. It reduces the levels of muscle sympathetic nerve activity (MSNA) at rest and during exercise in patients suffering of this syndrome. Thus, we tested the hypothesis that exercise training would improve the mechanoreflex and metaboreflex control of MSNA in heart failure patients. In addition, we investigated whether the improvement in the mechanoreflex and metaboreflex control is related to changes in the cyclooxygenase pathway and expression of TRPV1 and CB1 receptors, respectively. **Methods.** Patients with heart failure were consecutively and randomly divided into two groups: heart failure untrained (HFUT, n = 17) and heart failure exercise-trained (HFET, n = 17). MSNA was measured by microneurography technique and muscle blood flow (MBF) by venous occlusion plethysmography. Heart rate (HR) and blood pressure (BP) were assessed by noninvasive measure on a beat-to-beat basis (Finometer). Gene expression analysis was investigated by vastus lateralis muscle biopsy. Aerobic exercise training was performed on a cycle ergometer at moderate intensity, three 40-min session/wk for 16 weeks. Mechanoreflex sensitivity was evaluated by means the absolute difference in MSNA at peak passive exercise and baseline. Metaboreflex sensitivity was calculated by means the absolute difference in MSNA at 1st min after exercise period with muscle

circulatory arrest and baseline. **Results.** Exercise training reduced MSNA and increased MBF. Exercise training significantly decreased MSNA responses during passive exercise. The mean BP response was lower in HFET group when compared to HFUT group. There were no significant changes in HR, systolic and diastolic BP and MBF responses during passive exercise in HFET group. Regarding metaboreflex sensitivity, exercise training significantly increased the MSNA responses at 1st minute of post exercise circulatory arrest. The responses of HR, BP and MBF were unchanged after exercise training. No significant changes were observed in mechanoreflex and metaboreflex control in the HFUT group. Furthermore, exercise training significantly reduced gene expression of COX-2 and EP4 receptor and significantly increased expression of TRPV1 and CB1 receptors. There were no significant changes in the gene expressions in the HFUT group. **Conclusions.** Exercise training improves mechanoreflex and metaboreflex control of MSNA in heart failure patients. These changes may be associated with changes in gene expression of COX-2 and EP4 receptor and TRPV1 and CB1 receptor, respectively. Together, these findings may explain, at least in part, the decrease in sympathetic nerve activity and the improvement in exercise tolerance in patients with heart failure.

Keywords: Heart failure; Exercise; Sympathetic nervous system/physiopathology; Mechanoreceptors; Muscle, skeletal/physiopathology; Cyclooxygenase 2; TRPV cation channels.

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca é uma das maiores causas de hospitalização no mundo¹. Ela acomete 1-2% da população adulta e 6-10% da população idosa². Atualmente, afeta cerca de 5,7 milhões de norte-americanos³ e a cada ano 550.000 novos casos são registrados⁴. Apesar dos avanços sobre a fisiopatologia e o tratamento da insuficiência cardíaca, essa síndrome continua contribuindo para os elevados índices de morbimortalidade no mundo todo². No Brasil este quadro não é diferente, dados do sistema único de saúde (SUS) mostram que a insuficiência cardíaca é a causa mais frequente de internação por doença cardiovascular, com aumento progressivo nas taxas de mortalidade em pacientes mais idosos⁵. Este fato torna-se ainda mais preocupante na medida em que o número de idosos continua aumentando significativamente, segundo o censo realizado em 2010⁶.

A insuficiência cardíaca é uma síndrome clínica complexa de caráter sistêmico, definida por disfunção cardíaca que ocasiona perfusão tecidual inadequada. Inicialmente, o comprometimento do débito cardíaco se manifesta durante os esforços, mas com a progressão da síndrome ele é observado também no repouso⁵. Os sintomas mais comuns da insuficiência cardíaca são dispneia e intolerância aos esforços, que aparecem e progredem com a severidade da síndrome⁷. Muitos mecanismos são potencialmente responsáveis pela baixa capacidade física no paciente com insuficiência cardíaca, incluindo a disfunção cardíaca, o aumento da atividade nervosa simpática, a diminuição do fluxo sanguíneo periférico e as anormalidades no músculo esquelético^{7,8}. Entretanto, evidências acumuladas ao longo dos anos mostram que a intolerância ao esforço físico depende mais do grau das alterações periféricas do que das alterações centrais. Este conceito ganhou força na medida em que ficou confirmado que a fração de ejeção do ventrículo esquerdo tem baixa correlação com o consumo de oxigênio pico

(VO₂ pico)⁹⁻¹¹ e que medicamentos capazes de melhorar agudamente a função cardíaca não influenciam a capacidade funcional¹².

Dentre as alterações periféricas da insuficiência cardíaca, um dos marcadores mais expressivos é a exacerbação neuro-humoral. A hiperativação do sistema nervoso simpático, que inicialmente compensa a disfunção cardíaca, se torna extremamente deletéria em longo prazo, contribuindo, sobremaneira, para a progressão da insuficiência cardíaca¹³⁻¹⁵. Esta exacerbação simpática contribui para a vasoconstrição periférica, redução do fluxo sanguíneo muscular e disfunção endotelial, fatores que, em conjunto, levam à miopatia esquelética, diminuição da capacidade funcional e intolerância aos esforços¹⁵.

Se por um lado não há dúvidas sobre a hiperativação simpática na insuficiência cardíaca, por outro, os mecanismos envolvidos nessa alteração não são totalmente conhecidos. Para alguns autores, o aumento da atividade nervosa simpática pode ser explicado pela diminuição na sensibilidade barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar, ou mesmo, pela hiperativação quimiorreflexa¹⁵. Ferguson e colaboradores¹⁶, na década de 80, mostraram que o controle barorreflexo arterial da frequência cardíaca e da atividade nervosa simpática muscular está diminuído em resposta a infusão de drogas vasoativas em pacientes com insuficiência cardíaca. Posteriormente, Al-Hesayen e Parker observaram que a atividade nervosa simpática renal, mediada pelos barorreceptores arteriais, também está diminuída nestes pacientes¹⁷. Estas alterações parecem estar associadas aos níveis elevados de angiotensina II e espécies reativas de oxigênio, tanto no plasma, quanto no sistema nervoso central^{18,19}. Outros autores mostraram, no entanto, que as alterações na sensibilidade do reflexo cardiopulmonar explicam o curso temporal e a magnitude da ativação adrenérgica na progressão da insuficiência cardíaca^{20,21}. Além disso, o controle quimiorreflexo pode ser

profundamente alterado na síndrome²². Em pacientes com insuficiência cardíaca a estimulação dos quimiorreceptores centrais provoca um aumento exagerado na ventilação pulmonar e na atividade nervosa simpática²³. Resposta semelhante ocorre com a ativação dos quimiorreceptores periféricos²⁴. Alguns investigadores relacionam a hipersensibilidade dos quimiorreceptores na insuficiência cardíaca ao aumento nas concentrações de angiotensina II e à diminuição nas concentrações de óxido nítrico nos corpos carotídeos e no sistema nervoso central^{18,25,26}.

Nas últimas décadas, o aumento da atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca tem sido atribuído também às alterações no controle ergorreflexo. Este reflexo é responsável por ajustes ventilatórios e hemodinâmicos durante o exercício físico, que garantem uma oferta adequada de oxigênio e uma remoção eficiente dos metabólitos produzidos nos músculos em atividade²⁷⁻³³. A ativação deste reflexo é mediada por receptores de fibras nervosas do grupo III (mielinizadas) e do grupo IV (não mielinizadas). Estes receptores musculares são o braço aferente do ergorreflexo, que é integrado por meio de circuitos neuronais no tronco encefálico e na medula ventrolateral^{31,32}. Estudos em animais e humanos mostraram que os receptores das fibras do grupo III, localizadas no interstício do músculo esquelético e tendões, são ativados preferencialmente por deformações mecânicas no músculo esquelético e, por isso, conhecidos por mecanorreceptores. Já os receptores das fibras do grupo IV, localizados próximos aos vasos sanguíneos e linfáticos, são ativadas principalmente pela diminuição na oferta de oxigênio ao músculo esquelético e por metabólitos produzidos durante a contração muscular, o que levou alguns autores a caracterizá-los por metaborreceptores²⁸⁻³³. No entanto, a ativação destas fibras é mais complexa do que parece. As fibras do grupo III, que respondem aos estímulos mecânicos, podem ter sua sensibilidade modulada por algumas substâncias químicas, enquanto, um pequeno grupo

de fibras do grupo IV pode responder às alterações mecânicas³⁴. Por exemplo, o acúmulo de metabólitos da via das ciclooxigenases fazem com que as fibras do grupo III fiquem mais sensíveis às alterações no tônus muscular³⁵⁻³⁷. Ao contrário, a diminuição nas concentrações destes metabólitos diminui a sensibilidade das fibras do grupo III à contração muscular³⁷⁻³⁹.

As ciclooxigenases são enzimas que sintetizam prostaglandinas e tromboxanos a partir do ácido araquidônico. São conhecidas duas isoformas: a ciclooxigenase-1 (COX-1) e a ciclooxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas, enquanto a COX-2 pode ser induzida por diversos estímulos fisiológicos e/ou patológicos. O estímulo inicial para esta via metabólica é a liberação do ácido araquidônico das membranas celulares, pela ação da fosfolipase A₂. Em seguida, a COX-1 ou COX-2 metabolizam o ácido araquidônico em prostaglandina G₂ (PGG₂) e, posteriormente, prostaglandina H₂ (PGH₂)⁴⁰. A PGG₂ e a PGH₂ não têm muita atividade metabólica, mas servem como substrato para a formação de diferentes prostaglandinas, incluindo a PGE₂ e PGI₂, e tromboxano TXA₂, pela ação das respectivas sintases mPGES, PGIS e TXAS. As prostaglandinas ligam-se a receptores prostanóides, localizados na membrana celular, acoplados a proteína G. Estes receptores estão organizados em grupos, de acordo com a afinidade às prostaglandinas. A PGE₂ se liga aos receptores EP₁, EP₂, EP₃ e EP₄, a PGI₂ ao receptor IP e o TXA₂ ao receptor TP⁴¹ (Figura 1).

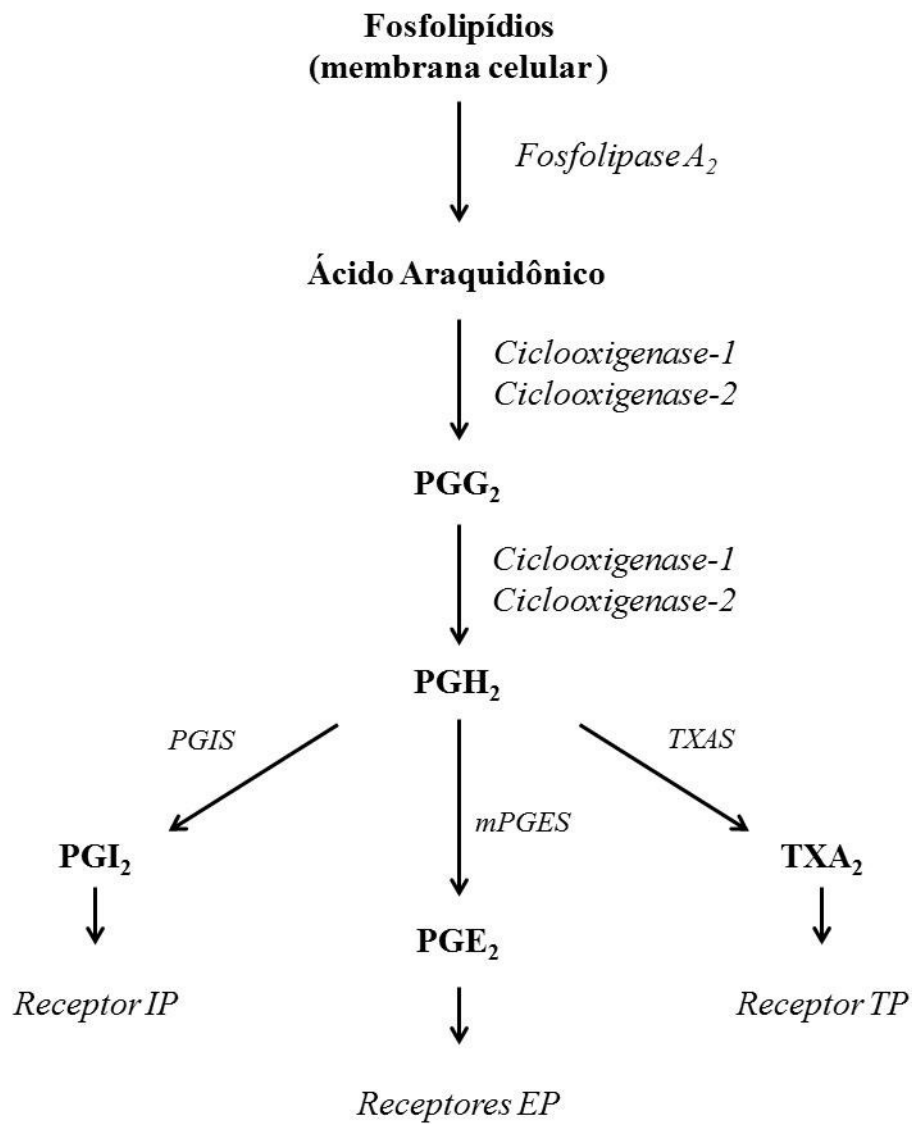


Figura 1. Esquema da via das ciclooxygenases. PGG₂ = prostaglandina G₂; PGH₂ = prostaglandina H₂; PGIS = prostaciclina I₂ sintase; mPGES = prostaglandina E₂ sintase; TXAS = tromboxano A₂ sintase; IP = receptor de prostaciclina I₂, EP = receptor de prostaglandina E₂; TP = receptor de tromboxano A₂.

Estudos clássicos mostram que alterações funcionais e metabólicas do músculo esquelético levam à hiperativação dos ergorreceptores em pacientes com insuficiência cardíaca, o que provoca aumento reflexo exagerado na atividade nervosa simpática. Esta teoria ficou conhecida como hipótese muscular e estabeleceu o conceito de que a exacerbação simpática leva à vasoconstrição excessiva e repostas hemodinâmicas exageradas, que são responsáveis pela intolerância aos esforços em pacientes com insuficiência cardíaca⁴²⁻⁴⁴. A hipótese muscular estimulou vários pesquisadores a investigarem a participação da sinalização dos mecanorreceptores e metaborreceptores musculares na hiperativação simpática em pacientes com insuficiência cardíaca. Middlekauff e colaboradores⁴⁵ mostraram aumento acentuado da atividade nervosa simpática muscular, durante o exercício de *handgrip* a 20% da força de contração voluntária máxima (CVM), que estimula predominantemente os mecanorreceptores, sem a produção de metabólitos que poderiam ativar os metaborreceptores. Posteriormente, Negrão e colaboradores⁴⁶ observaram que o aumento da atividade nervosa simpática muscular durante a estimulação dos mecanorreceptores (*handgrip* 10% CVM) está relacionado ao grau de progressão da insuficiência cardíaca. Além disso, pacientes com insuficiência cardíaca apresentam aumento exagerado da vasoconstrição renal durante *handgrip* (20% CVM), quando avaliados pela tomografia de emissão de pósitrons⁴⁷. Por outro lado, para avaliar a contribuição dos metaborreceptores no aumento da atividade nervosa simpática muscular durante o exercício físico, alguns autores utilizaram a oclusão circulatória regional após o exercício moderado. Esta manobra permite avaliar isoladamente a ação das alterações metabólicas produzidas no músculo em exercício, independentemente da ação dos mecanorreceptores. Estes autores verificaram que o aumento na atividade nervosa simpática muscular durante a oclusão circulatória regional após exercício de *handgrip*

(30-40% CVM), está atenuado em pacientes com insuficiência cardíaca quando comparados com indivíduos saudáveis^{46,48,49}. Em conjunto, estes estudos sugerem que o aumento da atividade nervosa simpática muscular durante o exercício físico nos pacientes com insuficiência cardíaca está relacionado ao aumento da sensibilidade dos mecanorreceptores e não à sensibilidade dos metaborreceptores, que está diminuída em pacientes com insuficiência cardíaca.

Os mecanismos envolvidos nas alterações dos controles mecano e metaborreflexo muscular na insuficiência cardíaca estão sobre intensa investigação. Scott e colaboradores⁵⁰ mostraram aumento significativo nos níveis das prostaglandinas PGE₂ e PGF_{1a} (metabolizada rapidamente a partir da PGI₂), durante o exercício de *handgrip* dinâmico nos pacientes com insuficiência cardíaca. Os autores mostraram também que as alterações nos níveis das prostaglandinas se correlacionam com as repostas ventilatórias exageradas nestes pacientes. Estes dados sugerem que a PGE₂ e PGI₂ podem modular a sinalização aferente simpática nos pacientes com insuficiência cardíaca. Posteriormente, Middlekauff e colaboradores⁵¹ mostraram que a atividade nervosa simpática muscular durante exercício dinâmico leve, que não produz acidose metabólica, diminui significativamente após a infusão intra-arterial de um potente inibidor da via das ciclooxigenases (indometacina) em pacientes com insuficiência cardíaca. Além disso, recentemente, Morales e colaboradores⁵² avaliaram as duas isoformas de ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) no músculo esquelético de animais com insuficiência cardíaca. Neste estudo os autores observaram que não houve diferença nos níveis de expressão proteica da COX-1 nos animais com insuficiência cardíaca quando comparados aos animais controle. No entanto, quando os autores avaliaram a COX-2, observaram um aumento significativo na expressão desta isoforma nos animais com insuficiência cardíaca. No mesmo trabalho os autores mostraram que o

bloqueio da COX-1 não altera a atividade nervosa simpática renal e a pressão arterial em resposta a estimulação das fibras do grupo III nos animais com insuficiência cardíaca. Ao contrário, o bloqueio da COX-2 provoca alterações significativas nas respostas de atividade nervosa simpática renal e pressão arterial durante a estimulação das fibras do grupo III nos animais com insuficiência cardíaca⁵². Estes resultados sugerem que a insuficiência cardíaca provoca aumento na sensibilidade dos mecanorreceptores, via metabólitos produzidos pela COX-2, o que contribui para a hiperativação simpática durante o exercício físico em pacientes com insuficiência cardíaca.

Na tentativa de identificar os mecanismos envolvidos na diminuição da sensibilidade dos metaborreceptores musculares na insuficiência cardíaca, Smith e colaboradores⁵³ estudaram animais com cardiomiopatia isquêmica e animais submetidos à ablação dos receptores TRPV1 (receptor de potencial transitório da subfamília vanilóide - tipo 1). Os receptores TRPV1 são canais iônicos ativados por prótons e calor, localizados nas fibras aferentes primárias do grupo IV e no músculo esquelético (figura 2). Neste estudo os autores mostraram que animais com cardiomiopatia apresentam diminuição na expressão do receptor TRPV1, tanto na raiz dorsal da medula, quanto no músculo esquelético, quando comparados aos animais controles. Além disso, nos animais com cardiomiopatia as respostas ao estímulo das fibras do grupo IV estão diminuídas, assim como, nos animais submetidos à ablação dos receptores TRPV1. Estes dados sugerem que a diminuição na sensibilidade metaborreflexa na insuficiência cardíaca pode se relacionar com alterações na expressão do receptor TRPV1. Recentemente, o mesmo grupo mostrou que receptores CB1 (canabinóides do tipo 1), co-localizados com receptores TRPV1 nas terminações das fibras do grupo IV e no músculo esquelético (figura 2), são menos sensíveis em animais

com cardiomiopatia isquêmica que em animais saudáveis, indicando que estes receptores também podem estar envolvidos na diminuição de sensibilidade metaborreflexa na insuficiência cardíaca⁵⁴.

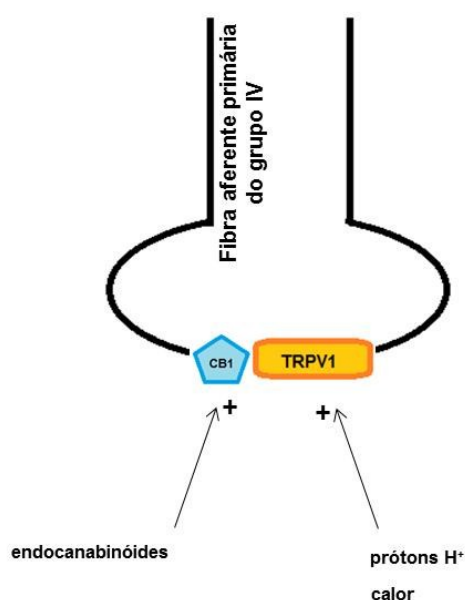


Figura 2. Esquema de localização e ativação dos receptores TRPV1 e CB1.

Evidências acumuladas nas últimas duas décadas mostram que o exercício físico é uma estratégia segura e muito eficiente para o tratamento da insuficiência cardíaca. Estudos mostram de forma consistente que o treinamento físico melhora significativamente a capacidade funcional e a qualidade de vida de pacientes com insuficiência cardíaca⁵⁵⁻⁵⁷. Esta forma de terapia não-farmacológica também diminui muito a atividade nervosa simpática nestes pacientes^{12,58-61}. Outro efeito importante do exercício físico está relacionado à redução da resistência vascular periférica e aumenta o fluxo sanguíneo muscular em pacientes portadores de insuficiência cardíaca^{12,58-61}. Estes resultados são relevantes por duas razões. Primeiro, o aumento de fluxo sanguíneo muscular contribui decisivamente para a melhora na miopatia muscular esquelética na

insuficiência cardíaca¹⁵. Segundo, a atividade nervosa simpática e o fluxo sanguíneo muscular são preditores independentes de mortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca⁶².

Se a exacerbação nervosa simpática na insuficiência cardíaca pode ser mediada por alterações nos controles mecano e metaborreflexo muscular, e o treinamento físico diminui significativamente a atividade nervosa simpática muscular em pacientes com insuficiência cardíaca, seria lógico imaginar que essa conduta não-medicamentosa melhorasse a hipersensibilidade dos mecanorreceptores e a hipossensibilidade dos metaborreceptores em pacientes com insuficiência cardíaca. Um estudo clássico de Piepoli e colaboradores⁶³ mostrou que o treinamento físico melhora as repostas hemodinâmicas e ventilatórias durante a ativação do controle ergorreflexo em pacientes com insuficiência cardíaca. Mais recentemente, Wang e colaboradores⁶⁴ mostraram que o treinamento físico normaliza a sensibilidade mecanorreflexa e melhora a sensibilidade metaborreflexa em animais com insuficiência cardíaca. Os mesmos autores também mostraram que estas alterações podem estar associadas com o efeito do treinamento físico no músculo esquelético⁶⁵. No entanto, os efeitos do treinamento físico no controle mecano e metaborreflexo musculares da atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca não é conhecido.

Este estágio do conhecimento nos leva a estudar os efeitos do treinamento físico nos controles mecano e metaborreflexo muscular da atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca em estágio avançado da síndrome. Além disso, é essencial verificar se os efeitos desta conduta não-farmacológica estão relacionados aos mecanismos de regulação destes controles, envolvendo a via das ciclooxigenases e dos receptores TRPV1 e CB1.

2. OBJETIVOS

2.1 *Objetivos Primários*

Testar a hipótese de que:

1) O treinamento físico normaliza a sensibilidade dos mecanorreceptores que regulam a atividade nervosa simpática muscular e pressão arterial em pacientes com insuficiência cardíaca;

2) O treinamento físico melhora a sensibilidade dos metaborreceptores musculares que controlam a atividade nervosa simpática muscular e pressão arterial em pacientes com insuficiência cardíaca;

3) A melhora do controle mecanorreflexo através do treinamento físico está associada às alterações na via das ciclooxygenases, incluindo a expressão gênica das enzimas COX-1, COX-2, mPGES, PGIS e TXAS e os receptores EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, IP e TP; e

4) A melhora do controle metaborreflexo através do treinamento físico está associada às alterações na expressão gênica dos receptores TRPV1 e CB1.

2.2 *Objetivos Secundários*

Testar a hipótese de que:

1) O treinamento físico altera as repostas de fluxo sanguíneo muscular e frequência cardíaca durante a estimulação dos mecanorreceptores em pacientes com insuficiência cardíaca; e

2) O treinamento físico altera as repostas de fluxo sanguíneo muscular e frequência cardíaca durante a estimulação dos metaborreceptores em pacientes com insuficiência cardíaca.

3. MÉTODOS

3.1 Amostra

Foram selecionados 100 pacientes com insuficiência cardíaca para participar do estudo. Os pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia isquêmica, idiopática, hipertensiva ou chagásica, idade de 30 a 65 anos, de ambos os sexos, classe funcional II e III da NYHA (New York Heart Association), no mínimo três meses de diagnóstico da síndrome, estado clínico estável, tratamento medicamentoso sem alteração nos últimos 15 dias, fração de ejeção $\leq 40\%$ e consumo de oxigênio pico ≤ 20 mL/kg/min foram convidados a participar do estudo. Foram excluídos os pacientes com marca-passo, doenças pulmonares, doenças neurológicas, insuficiência renal e doenças músculo esqueléticas. Os 56 pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram divididos aleatoriamente em dois grupos: 1) pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=28) e 2) pacientes com insuficiência cardíaca treinados (ICT, n=28). No grupo ICNT dezessete pacientes finalizaram o estudo. Onze pacientes não concluíram o estudo por descompensação da síndrome ou eventos cardiovasculares (n=4), doenças e eventos não cardiovasculares (n= 2); óbito (n=1) ou por não realizarem a reavaliação (n=4). No grupo ICT dezessete pacientes finalizaram o estudo. Onze pacientes não concluíram o estudo por descompensação da síndrome ou eventos cardiovasculares (n=3), doenças e eventos não cardiovasculares (n=3), óbito (n=1) ou por não concluírem o protocolo de treinamento físico (n=4). O desenho do estudo está apresentado na figura 3. O estudo foi aprovado pela Comissão Científica do Instituto do Coração (SDC 3083/07/158) e pela Comissão de Ética para a Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq n°0020/08). Todos os voluntários, após esclarecimentos sobre o protocolo experimental, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.2 Desenho do estudo

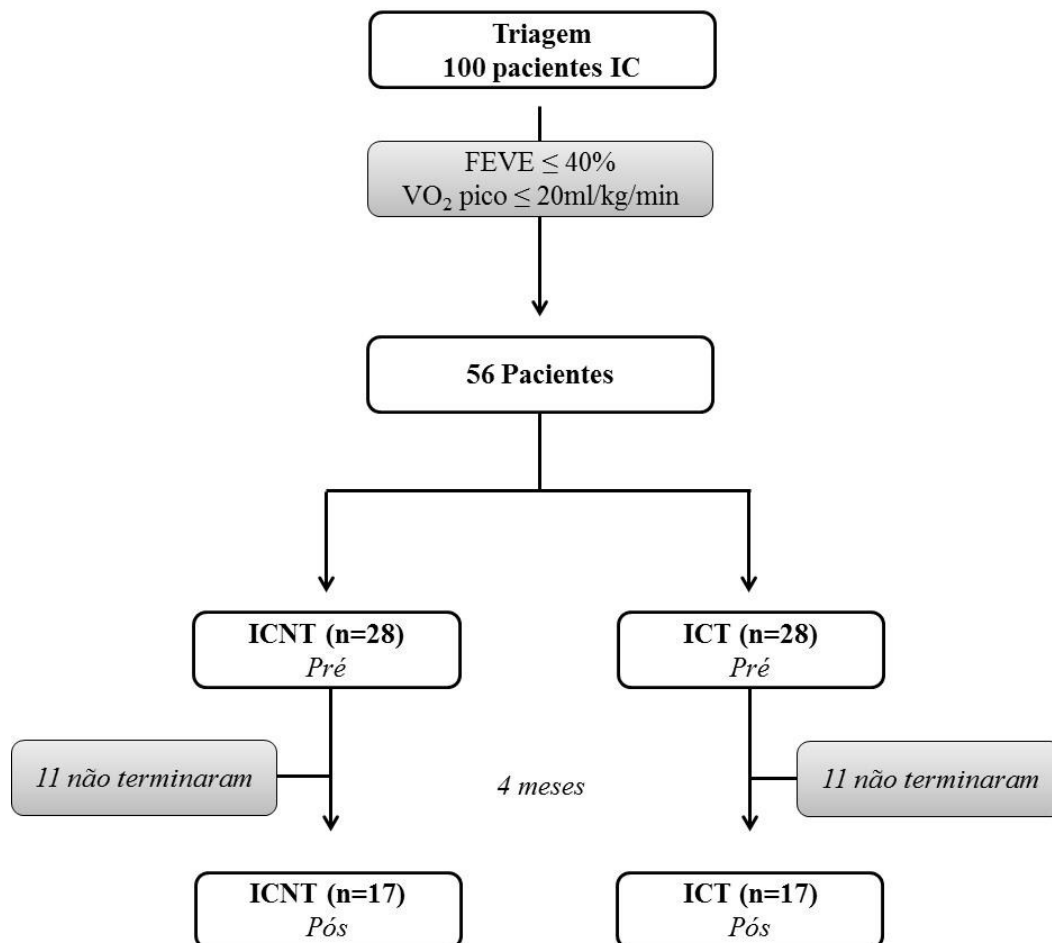


Figura 3. Planejamento experimental. IC = insuficiência cardíaca; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VO₂ pico = consumo de oxigênio pico; ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados. Pré = avaliação da sensibilidade mecano e metaborreflexa e avaliação muscular. Pós = avaliação da função cardíaca, capacidade funcional, avaliação mecano e metaborreflexa e avaliação muscular.

3.3 Avaliação da Função Cardíaca

A função ventricular foi avaliada por ecodopplecardiografia (IE33 da Philips Medical System, equipados com transdutores transtorácicos de banda larga com 2-5 MHz). Durante o exame foram analisados o diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo (DSVE), diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDVE), volume sistólico final, volume diastólico final e motilidade regional de parede avaliada pelo ecocardiograma no basal. O diâmetro sistólico e o diâmetro diastólico foram medidos a partir do traçado do modo M obtido a partir da observação do eixo longo paraesternal. Os volumes do ventrículo esquerdo e fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foram analisados por meio do exame bidimensional, cortes duas e quatro câmaras pelo método de Simpson modificado (Figura 4).

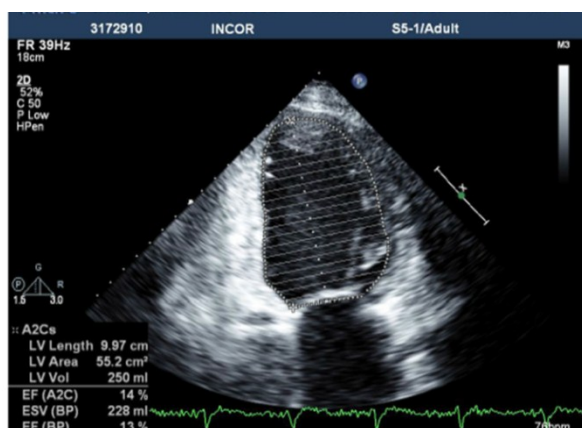


Figura 4. Exemplo de avaliação da fração de ejeção por ecocardiografia pelo método de Simpson.

3.4 Avaliação da Capacidade Funcional

A avaliação funcional foi realizada pelo teste cardiopulmonar em esforço (SensorMedics – Vmax Analyzer Assembly, Encore 29S), em ciclo ergômetro (Ergoline – Via Sprint 150 P). Foi utilizado protocolo em rampa com aumento constante de carga (incrementos de 5 a 15W/min) e velocidade de 60 a 70 rotações por minuto até a exaustão⁶⁶ (Figura 5). Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi

continuamente avaliado através de eletrocardiograma com doze derivações simultâneas (Micromed – Cardio PC 13). A frequência cardíaca foi registrada em repouso com o paciente posicionado no ciclo ergômetro, ao final de cada minuto do teste de esforço e no período de recuperação. A pressão arterial foi medida sempre pelo mesmo avaliador, em repouso, nos 30 segundos finais a cada dois estágios do exercício e no período de recuperação. A capacidade funcional máxima foi determinada pelo consumo de oxigênio de pico (VO_2 pico) na intensidade máxima de exercício. O limiar anaeróbio foi considerado no minuto em que o paciente apresentava o menor valor de equivalente ventilatório de O_2 (VE/VO_2) e pressão parcial de oxigênio no final da expiração ($PetO_2$), antes que estes parâmetros aumentassem progressivamente e quando ocorreu incremento não linear do valor da razão de troca respiratória (RR)⁶⁶. O ponto de compensação respiratória foi considerado no minuto em que o paciente apresentou o menor valor de equivalente ventilatório de CO_2 (VE/VCO_2), antes que este parâmetro iniciasse aumento progressivo e quando simultaneamente, foi detectado o valor máximo de pressão parcial de CO_2 no final da expiração ($PetCO_2$), antes do início de uma queda progressiva nesta resposta⁶⁷.



Figura 5. Teste cardiopulmonar em esforço realizado em ciclo ergômetro, com protocolo em rampa.

3.5 Avaliação da Atividade Nervosa Simpática

A atividade nervosa simpática muscular foi avaliada pela microneurografia, técnica direta de registro de multiunidade da via pós-ganglionar eferente no nervo fibular⁶⁸. Os registros foram obtidos após da implantação de um microelétrodo referência e um microelétrodo no nervo fibular (Figura 6). Os microelétrodos foram conectados à um pré-amplificador, seguido por um filtro passa-banda e um discriminador de amplitude. Para fins de registro e análise, o neurograma filtrado foi alimentado por um integrador de capacitância-resistência para a obtenção da voltagem média da atividade neural. A atividade nervosa simpática muscular foi avaliada através de registro contínuo durante todo o protocolo no programa Windaq. O sinal do nervo foi analisado pela contagem do número de disparos ocorridos em 1 minuto, e posteriormente, corrigido pela frequência cardíaca^{12,46,57-61}.

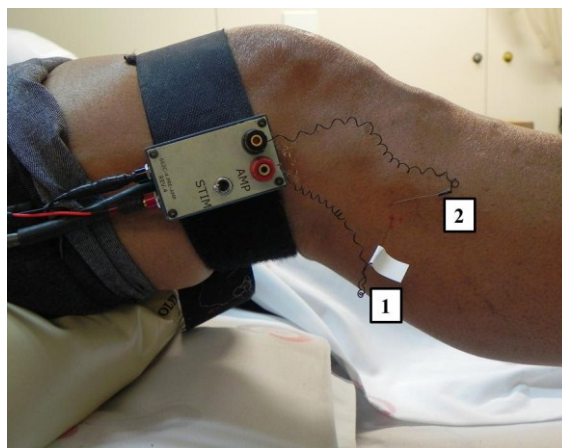


Figura 6. Avaliação da atividade nervosa simpática por microneurografia. 1 = eletrodo inserido no nervo fibular; 2 = eletrodo referência inserido na pele.

3.6 Avaliação do Fluxo Sanguíneo Muscular

O fluxo sanguíneo muscular foi avaliado pela técnica de pletismografia de oclusão venosa. Durante a avaliação o paciente permaneceu em decúbito dorsal com o braço elevado acima do coração. Manguitos de esfigmomanômetro foram colocados em volta do punho e na parte superior do braço direito. Um silástico preenchido com mercúrio foi colocado em volta do antebraço, ligado à um transdutor de baixa pressão e conectado ao pletismógrafo (Hokanson AI6). O manguito do punho foi insuflado a 200 mmHg e assim permaneceu durante toda a avaliação. Com intervalos de 10 segundos, o manguito superior do braço foi insuflado acima da pressão venosa durante 10 segundos. O aumento no volume do antebraço foi captado pelo silástico de mercúrio e gravado no pletismógrafo (Figura 7). O fluxo sanguíneo no antebraço foi registrado durante todo o protocolo experimental, posteriormente analisado e expresso em mL/min/100mL de tecido. A condutância vascular no antebraço (CVA) foi calculada pela divisão do fluxo sanguíneo no antebraço (ml/min/100ml) pela pressão arterial média (mmHg) e multiplicada por 100, sendo expressa em “unidades”^{12,46,57-61}.



Figura 7. Avaliação do fluxo sanguíneo muscular por pletismografia de oclusão venosa.

3.7 Avaliação da Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca

A pressão arterial e a frequência cardíaca foram aferidas continuamente, a cada batimento cardíaco, por técnica não-invasiva. Foi colocado um manguito de tamanho adequado em torno do dedo médio da mão esquerda e outro no braço esquerdo, ambos conectados ao monitor (Finometer), para aferir frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e diastólica a cada batimento cardíaco (Figura 8). Esse sinal foi gravado durante todo o protocolo experimental e posteriormente, analisado no programa Excel⁶⁹.



Figura 8. Avaliação da pressão arterial e da frequência cardíaca a cada batimento cardíaco por método não invasivo.

3.8 Protocolo Experimental para Avaliação do Controle Mecanorreflexo Muscular

Para investigar o controle mecanorreflexo da atividade nervosa simpática muscular e pressão arterial foi utilizado o exercício passivo, isto é, uma manobra fisiológica que tem como objetivo estimular somente os mecanorreceptores musculares. Após a instrumentação e preparo para a realização da microneurografia, pletismografia de oclusão venosa, medidas de frequência cardíaca e pressão arterial, iniciou-se o protocolo experimental. Foram registrados 3 minutos em repouso, seguidos de 3 minutos de exercício passivo e 3 minutos de recuperação (Figura 9A). O exercício passivo consistiu em extensão e flexão da articulação do joelho da perna esquerda,

aproximadamente 30 vezes por minuto (Figura 9B). A sensibilidade mecanorreflexa foi calculada pela diferença (Δ) do valor absoluto no 3º minuto de exercício passivo e a média dos valores absolutos no registro basal ($\Delta = 3^\circ \text{ min de exercício passivo} - \text{média basal}$). O controle mecanorreflexo também foi avaliado pela análise da área sob a curva durante os 3 minutos de exercício passivo⁷⁰.

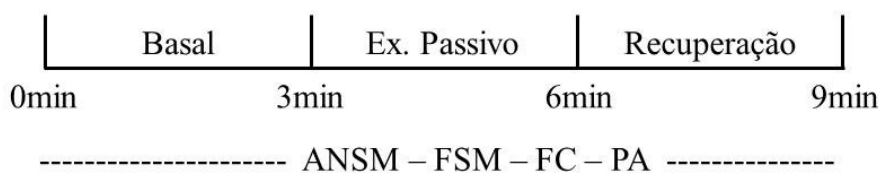
A**B**

Figura 9. Avaliação do controle mecanorreflexo muscular. A) Protocolo experimental. Ex. = exercício; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; PA = pressão arterial; FC = frequência cardíaca. B) Exercício passivo (flexão e extensão da articulação do joelho).

3.9 Protocolo Experimental para Avaliação do Controle Metaborreflexo Muscular

Após o retorno dos parâmetros estudados aos níveis basais, foi iniciado o segundo protocolo, que teve como objetivo investigar o controle dos metaborreflexo da atividade nervosa simpática muscular e pressão arterial. Esse protocolo foi iniciado com 3 minutos de registros em repouso, 3 minutos de exercício isométrico com 30% da contração voluntária máxima, seguidos de 2 minutos de oclusão da circulação na perna previamente exercitado e 3 minutos de recuperação (Figura 10A). A contração isométrica do quadríceps teve como objetivo estimular a produção de metabólitos e alterações musculares semelhantes àsquelas provocadas pelo exercício físico de intensidade moderado. Ao final do exercício, com a oclusão da circulação na perna exercitada foi possível avaliar isoladamente a estimulação dos metaborreceptores musculares (Figura 10B). A contração voluntária máxima foi calculada pela média da força máxima atingida em 3 repetições consecutivas, medida através de um dinamômetro (Dinamômetro Kratos modelo DLC). A sensibilidade metaborreflexa foi calculada pela diferença (Δ) entre o valor absoluto no 1º minuto de oclusão circulatória pós-exercício e a média dos valores absolutos no registro basal ($\Delta = 1^\circ \text{ min de oclusão circulatória pós-exercício} - \text{média basal}$).

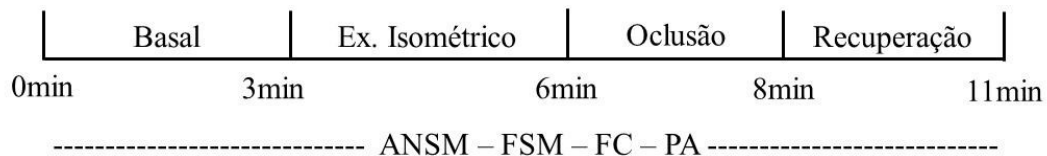
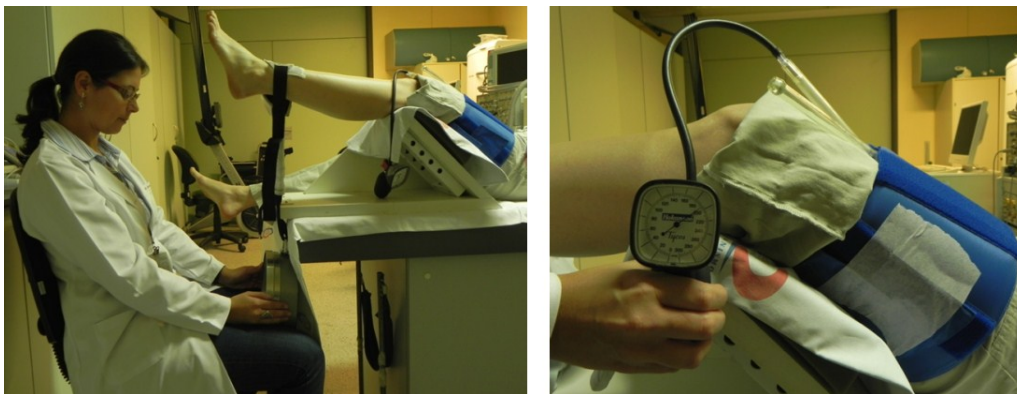
A**B**

Figura 10. Avaliação do controle metaborreflexo muscular. A) Protocolo experimental. Ex. = exercício; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; PA = pressão arterial; FC = frequência cardíaca. B) Exercício isométrico do quadríceps e oclusão circulatória pós-exercício.

3.10 Biópsia do Músculo Esquelético

A biópsia foi feita no músculo vasto-lateral, aproximadamente no ponto médio entre a borda superior da patela e o trocânter maior do fêmur. Após assepsia com clorexidina 0,5% (solução alcoólica) foi feita anestesia local com Lidocaína 1%. Em seguida, foi feita uma pequena incisão na pele e subcutâneo de mais ou menos meio centímetro de comprimento e 1 cm de profundidade. O sangramento local foi estancado por compressão. Através da incisão foi introduzida uma agulha de Allendale - Bergstron modificada (Figura 11A) até uma profundidade suficiente para ultrapassar a fáscia e penetrar no músculo. Por meio de uma pressão negativa, feita por uma seringa acoplada à agulha, foi retirado um pequeno fragmento do músculo vasto-lateral (Figura 11B).

Após a retirada da agulha, foi feita compressão local por mais ou menos cinco minutos para estancar o sangramento. Em seguida, foi feito um “ponto falso” com *Steri-Strip* – 3M no local da incisão. Por último, a coxa foi enfaixada com gaze estéril e atadura e este curativo foi mantido por até 24hs.

O fragmento de músculo obtido no procedimento foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e posteriormente armazenado em freezer -80° C.

A**B**

Figura 11. Biopsia muscular do vasto-lateral. A) Agulha para biopsia muscular humana (Allendale - Bergstron modificada). B) Retirada do fragmento muscular.

3.11 Avaliação da Expressão Gênica

Com o intuito de estudar a participação da via das ciclooxigenases e dos receptores TRPV1 e CB1 no controle mecano e metaborreflexo muscular, foi realizada a extração do RNA total e posteriormente, utilizada a técnica de Transcriptase Reversa e Reação de Polimerase em Cadeia de Tempo Real (PCR em tempo real) conforme descrito abaixo.

3.11.1 Extração do RNA total

O fragmento de músculo do vasto-lateral previamente armazenado foi descongelada e imediatamente submetido à extração do RNA total. Todo o procedimento foi realizado com a utilização de luvas, soluções e materiais auto clavados, reservados para extração de RNA. As amostras com aproximadamente 30mg de peso foram homogeneizadas em TRIzol[®] Reagent (Invitrogen Life Technologies, CA, EUA). A extração foi realizada conforme as instruções do fabricante. O RNA precipitado foi lavado com etanol 70% para eliminar resíduos de fenol e sal, e solubilizado em água tratada (DEPC). A concentração de RNA total foi determinada por *NanoDrop* no comprimento de onda de 26 nm. A integridade da amostra foi verificada através de eletroforese em gel de agarose 1%, contendo 0,5µg/mL de brometo de etídeo. O gel foi imerso em tampão TAE 1X e a eletroforese realizada a 100Volts por aproximadamente 40 minutos. A qualidade das amostras foi avaliada pela análise da intensidade das bandas correspondentes às subunidades do RNA ribossomal 28S e 18S, com relação 28S/18S de aproximadamente 2.

3.11.2 Transcrição Reversa (*síntese de cDNA*)

O DNA complementar (cDNA) para análise do RNA mensageiro (mRNA) foi sintetizado a partir de 2µg de RNA total (Fermentas/Thermo Scientific Molecular Biology, MA, EUA). As amostras de RNA total foram incubadas com 0,5µg/µL de oligo (dT) primer, em um volume total de 12,5µl, a 65°C por 5 minutos, para se obter a primeira fita de cDNA. A transcrição reversa das amostras foi realizada em um volume total de 20µL, contendo 5x reaction buffer, RiboLock Inhibitor (20u), dNTP Mix (10mM cada), Revertaid M-MuLV Reverse Transcriptase (200u). Após incubação por 1 hora em 42°C, a temperatura foi elevada a 70°C por 10 minutos; posteriormente as amostras foram rapidamente colocadas em gelo para desnaturação de híbridos (RNA-cDNA) formados e inativação da enzima utilizada na reação.

3.11.3 Reação de Polimerase em Cadeia de Tempo Real (*PCR em tempo real*)

A análise da expressão gênica foi avaliada pela técnica de PCR em tempo real, utilizando primers específicos (Tabela 1) e SYBR Green I Master Mix (Applied-Biosystems), de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. Cada amostra foi analisada em duplicata. Os resultados foram expressos utilizando o método linear comparativo de ciclos (CT). Os valores de delta Ct (ΔCT) foram calculados para cada amostra e para cada gene de interesse pela diferença entre o Ct do gene de interesse menos o Ct do gene normalizador (ciclofilina). O cálculo das mudanças relativas do gene de interesse ($\Delta\Delta CT$) foi realizado pela subtração do (ΔCT) de cada amostra em relação à média do seu grupo no período pré-intervenção. Em seguida, foi calculada a equação $2^{-\Delta\Delta CT}$.

Tabela 1. Primers para análise da expressão gênica por PCR em tempo real.

<i>Primer</i>	<i>Sense</i>	<i>Anti-Sense</i>
COX-1	AATCCATAGGGCAGACTAGCAGGCTGG	AGCTGCACCTGATTAGTTGAAAGGC
COX-2	CGTCTTCTTGACGCGGAATT	TCGAAGGAAGGGAATGTTATTAC
mPGES	CATCATCAGCGCCCTCAAGACCTACC	TTGCCCTGCTCGTTCACAGCCTTC
EP1	ATCATGGTGGTGTCTGTCATCTGCTG	CAGTAGGATGTACACCCAAGGGTCCAGG
EP2	TGGGTCTTTGCCATCCTT	TCCGACAACAGAGGACTG
EP3	CAGCTTATGGGGATCATG	TCCGTGTGTGTCTTGCAG
EP4	CGTACATGAAGGGCCAATGG	TCATGGCGCAGATGATGCT
PGIS	CCTTGCTTTCGGCAGTCCTATA	TCTACACTCCGCTGGCTCAAC
IP	CTCCTTGCCTTCCGCTTCTA	GCCTTGCGGAAAAGGATGA
TXAS	GACGGAGTCTACACTCTGTGGCCCAG	AGGTCAAATTCAGGGTCAAAGAGCATGC
TP	CTGGCTTGGCTCCGATTTT	AATCCAGTTCTATTTTGGGAACAAA
TRPV1	GCCTGAAGGAGCTTGTCAACGCCAG	GTCTCTCGATGGCGATGTGCAGTGC
CB1	TGCTGAACTCCACCGTGAAC	GCGCAGTGCCTTCACAA
Ciclo	AATGCTGCACCAAACACAAA	CCTTCTTTCACCTTCCCAAA

COX-1 = ciclooxigenase - 1; COX-2 = ciclooxigenase - 2; mPGES = prostaglandina E₂ sintase; EP1= receptor de PGE₂ - tipo 1; EP2= receptor de PGE₂ - tipo 2; EP3 = receptor de PGE₂ - tipo 3; EP4 = receptor de PGE₂ - tipo 4; PGIS = prostaciclina I₂ sintase; IP = receptor de prostaciclina I₂; TXAS = tromboxano A₂ sintase; TP = receptor de tromboxano A₂; TRPV1 = receptor de potencial transitório da subfamília vanilóide - tipo 1; CB 1 = receptor endocanabinóide - tipo 1; ciclo = ciclofilina.

3.12 Protocolo de Treinamento Físico

O treinamento físico teve duração de 16 semanas, incluindo três sessões semanais com duração de 60 minutos. Cada sessão foi constituída por: 5 minutos de aquecimento; 40 minutos de exercício aeróbio em ciclo ergômetro, com intensidade entre o limiar anaeróbio e 10% abaixo do ponto de compensação respiratória (aferidos pela frequência cardíaca) (Figura 12); 10 minutos de exercícios resistidos; e 5 minutos de relaxamento^{12,57-61}.



Figura 12. Treinamento Físico na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício.

3.13 Análise Estatística

Foram testadas a normalidade (teste Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (teste de Levene) para todas as variáveis, em cada grupo, no período pré e pós-intervenção. Para as variáveis com distribuição normal e homogeneidade foram utilizados testes paramétricos. Neste caso, as possíveis diferenças nas características basais entre os grupos ICNT e ICT foram testadas pelo teste *t* de Student para dados não pareados. As possíveis alterações no período pós-intervenção em relação ao período

pré-intervenção, nos grupos ICNT e ICT, foram testadas por análise de variância de dois fatores (ANOVA) para medidas repetidas. Em caso de diferença significativa foi utilizada a comparação pelo *Post-hoc* de *Scheffè*. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal e/ou homogeneidade foram utilizados testes não paramétricos. Para estas variáveis, as diferenças entre os grupos ICNT e ICT, tanto no período pré-intervenção, quanto no período pós-intervenção, foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney. As possíveis alterações entre o período pré e pós-intervenção, em cada grupo, foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon. Para avaliar as diferenças nas proporções de gênero, classe funcional, etiologia e medicamentos, entre os grupos ICNT e ICT, foi utilizado o teste Qui-quadrado (X^2). A associação entre a diferença dos valores absolutos de repouso ($\Delta_{\text{absoluto}} = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) e a diferença dos valores absolutos da sensibilidade mecanorreflexa ($\Delta_{\text{absoluto}} = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) e da sensibilidade metaborreflexo ($\Delta_{\text{absoluto}} = \text{pós} - \text{pré-intervenção}$) foi avaliada pelo teste de correlação de Spearman para dados não pareados. Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão. Em todas as análises foi aceito como diferença significativa $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Características Pré-Intervenção

4.1.1 Características Físicas e Clínicas

As características físicas e clínicas iniciais dos grupos ICNT e ICT estão apresentadas na tabela 2. Os dois grupos eram semelhantes em relação à idade, IMC, gênero, classe funcional, etiologia e medicamentos.

Tabela 2. Características físicas e clínicas dos pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados.

	ICNT (n=17)	ICT (n=17)	P
Idade (anos)	54 ± 2	56 ± 2	0,36
IMC (kg/m²)	27 ± 1	27 ± 1	0,78
Gênero			
Masculino	15 (88%)	13 (77%)	0,37
Feminino	2 (12%)	4 (23%)	
Classe Funcional			
II	12 (70%)	12 (70%)	1,00
III	5 (30%)	5 (30%)	
Etiologia			
Idiopática	6 (35%)	6 (35%)	0,96
Isquêmica	5 (29%)	6 (35%)	
Hipertensiva	3 (18%)	3 (18%)	
Chagásica	3 (18%)	2 (12%)	
Medicamentos			
Betabloqueador	17 (100%)	17 (100%)	1,00
IECA/BRA	17 (100%)	17 (100%)	1,00
Espironolactona	14 (84%)	14 (84%)	1,00
Diurético	14 (82%)	12 (71%)	0,42
AAS	9 (53%)	9 (53%)	1,00

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; IMC = índice de massa corporal; IECA= inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA= bloqueador dos receptores de angiotensina; AAS = ácido acetilsalicílico. Valores apresentados em média ± erro padrão.

4.1.2 Função Cardíaca, Parâmetros Hemodinâmicos e Neurovasculares e Capacidade Funcional

Na avaliação da função cardíaca, observamos que não havia diferença na fração de ejeção, nos diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo entre os grupos ICNT e ICT no período pré-intervenção (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados nos parâmetros hemodinâmicos. Isto é, não observamos diferenças significativas na frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média entre ambos os grupos (Tabela 3). A capacidade funcional, avaliada pelo VO₂ pico, foi semelhante nos grupos ICNT e ICT (Tabela 3). Quando avaliamos os parâmetros neurovasculares no repouso, observamos que a atividade nervosa simpática muscular por minutos e corrigida pela frequência cardíaca não era diferente entre os grupos ICNT e ICT no período pré-intervenção (Tabela 3). Além disso, o fluxo sanguíneo muscular e a condutância vascular do antebraço foram semelhantes entre os dois grupos estudados (Tabela 3).

Tabela 3. Função cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, capacidade funcional e parâmetros neurovasculares, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.

	ICNT (n=17)	ICT (n=17)	P
FEVE (%)	29 ± 1	28 ± 2	0,73
DDVE (mm)	68 ± 1	68 ± 2	0,94
DSVE (mm)	57 ± 1	59 ± 2	0,47
FC (bpm)	62 ± 3	63 ± 2	0,80
PAS (mmHg)	131 ± 5	130 ± 4	0,82
PAD (mmHg)	71 ± 2	69 ± 2	0,51
PAM (mmHg)	94 ± 3	92 ± 3	0,61
VO₂ pico (ml/kg/min)	17 ± 1	18 ± 1	0,34
ANSM (disparos/min)	39 ± 2	40 ± 2	0,54
ANSM (disparos/100bat)	64 ± 4	65 ± 4	0,79
FSM (ml/min/100ml-tec)	1,48 ± 0,09	1,59 ± 0,08	0,35
CVA (U)	1,60 ± 0,11	1,77 ± 0,12	0,31

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; VO₂ pico = consumo de oxigênio; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão.

4.1.3 Sensibilidade Mecanorreflexo

Quando avaliamos as repostas à estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela diferença (Δ) entre o valor absoluto no pico do exercício passivo e o valor absoluto basal, verificamos que as alterações na frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média foram semelhantes entre os grupos ICNT e ICT no período pré-intervenção (Tabela 4). O aumento nos níveis de atividade nervosa simpática muscular por minuto e corrigida pela frequência cardíaca, assim como, a diminuição do fluxo sanguíneo muscular e da condutância vascular do antebraço foram semelhantes entre os grupos ICNT e ICT (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados na análise da área sob a curva durante os três minutos de exercício passivo. As respostas de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média, atividade nervosa simpática muscular, fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço não foram diferentes entre os dois grupos estudados no período pré-intervenção (Tabela 5).

Tabela 4. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela diferença (Δ) absoluta do 3º min de exercício passivo e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.

	ICNT (n=17)	ICT (n=17)	P
FC (bpm)	-0,3 ± 0,4	1 ± 0,5	0,14
PAS (mmHg)	1 ± 1	1 ± 1	0,73
PAD (mmHg)	1 ± 1	1 ± 1	0,71
PAM (mmHg)	1 ± 1	1 ± 1	0,84
ANSM (disparos/min)	5 ± 0,4	5 ± 1	0,61
ANSM (disparos/100bat)	8 ± 1	8 ± 1	0,97
FSM (ml/min/100ml-tec)	-0,18 ± 0,06	-0,03 ± 0,06	0,09
CVA (U)	-0,21 ± 0,08	- 0,05 ± 0,06	0,15

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão.

Tabela 5. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante a estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela área sob a curva durante os três minutos de exercício passivo, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.

	ICNT (n=17)	ICT (n=17)	P
FC (U)	181 ± 7	185 ± 8	0,66
PAS (U)	401 ± 17	397 ± 12	0,93
PAD (U)	217 ± 8	213 ± 7	0,66
PAM (U)	281 ± 10	273 ± 8	0,62
ANSM (U)	120 ± 5	130 ± 5	0,24
ANSM/100bat (U)	204 ± 11	214 ± 11	0,55
FSM (U)	4 ± 0,3	5 ± 0,3	0,08
CVA (U)	4 ± 0,4	5 ± 0,4	0,08

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão.

4.1.4 Sensibilidade Metaborreflexa

As repostas de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média durante a estimulação dos metaborreceptores musculares, analisadas pela diferença (Δ) entre o valor absoluto do 1º min de oclusão circulatória pós-exercício e o valor basal, não foram diferentes entre os grupos ICNT e ICT no período pré-intervenção (Tabela 6). As respostas de atividade nervosa simpática muscular por minuto e corrigida pela frequência cardíaca durante a oclusão circulatória pós-exercício também não foram diferentes entre os grupos estudados (Tabela 6). Resultados semelhantes foram observados no fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço durante a estimulação dos metaborreceptores musculares no período pré-intervenção (Tabela 6).

Tabela 6. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos metaborreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 1º min de oclusão circulatória e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados no período pré-intervenção.

	ICNT (n=17)	ICT (n=17)	P
FC (bpm)	7 ± 2	3 ± 1	0,11
PAS (mmHg)	10 ± 2	7 ± 1	0,48
PAD (mmHg)	7 ± 2	4 ± 1	0,18
PAM (mmHg)	9 ± 2	6 ± 1	0,33
ANSM (disparos/min)	-2 ± 1	-1 ± 1	0,39
ANSM (disparos/100bat)	-8 ± 2	- 6 ± 1	0,27
FSM (ml/min/100ml-tec)	0,14 ± 0,05	0,24 ± 0,06	0,21
CVA (U)	0,01 ± 0,07	0,13 ± 0,06	0,22

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão.

4.2 Efeitos do Treinamento Físico

4.2.1 Função Cardíaca, Parâmetros Hemodinâmicos e Neurovasculares e Capacidade Funcional

O treinamento físico reduziu significativamente os níveis da atividade nervosa simpática muscular por minuto e corrigida pela frequência cardíaca (Tabela 7). O treinamento físico aumentou os níveis de fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular do antebraço e VO_2 pico (Tabela 7). Por outro lado, o treinamento físico não alterou a função cardíaca e os parâmetros hemodinâmicos (Tabela 7). Não foram observadas alterações significativas na função cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, VO_2 pico, atividade nervosa simpática muscular, fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço no grupo ICNT no período pós-intervenção (Tabela 7). A comparação entre os grupos mostrou que a atividade nervosa simpática muscular foi significativamente menor e o fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular do antebraço e o VO_2 pico significativamente maior no grupo ICT em relação ao grupo ICNT (Tabela 7).

Tabela 7. Função cardíaca, parâmetros hemodinâmicos, capacidade funcional e parâmetros neurovasculares em pacientes treinados e não treinados.

	ICNT (n=17)		ICT (n=17)	
	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>
FEVE (%)	29 ± 1	31 ± 2	28 ± 2	32 ± 3
DDVE(mm)	68 ± 1	65 ± 1	68 ± 2	67 ± 2
DSVE (mm)	57 ± 1	54 ± 2	59 ± 2	53 ± 3
FC (bpm)	62 ± 3	61 ± 2	63 ± 2	63 ± 2
PAS (mmHg)	131 ± 5	136 ± 6	130 ± 4	126 ± 4
PAD (mmHg)	71 ± 2	75 ± 3	69 ± 2	70 ± 3
PAM (mmHg)	94 ± 3	99 ± 4	92 ± 3	91 ± 3
VO₂ pico (ml/kg/min)	17 ± 1	17 ± 1	18 ± 1	21 ± 1*#
ANSM (disparos/min)	39 ± 2	38 ± 2	40 ± 2	33 ± 2*#
ANSM (disparos/100bat)	64 ± 4	64 ± 3	65 ± 4	54 ± 3*#
FSM (ml/min/100ml-tec)	1,48 ± 0,09	1,49 ± 0,12	1,59 ± 0,08	1,89 ± 0,11*#
CVA (U)	1,60 ± 0,11	1,52 ± 0,11	1,77 ± 0,12	2,11 ± 0,15*#

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; VO₂ pico = consumo de oxigênio; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ICT pré (p<0,05). # vs. ICNT pós (p<0,05).

4.2.2 Sensibilidade Mecanorreflexa

Após 4 meses de treinamento físico as respostas (Δ) de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca diminuíram significativamente (Tabela 8 e Figura 12). O treinamento físico não alterou as respostas (Δ) de pressão arterial sistólica e diastólica, fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço (Tabela 8). No grupo ICNT não foram verificadas alterações significativas em nenhum dos parâmetros estudados (Tabela 8). Após o período experimental, a comparação entre os grupos mostrou que as respostas (Δ) de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca e a pressão arterial média foram significativamente menores no grupo ICT que no grupo ICNT (Tabela 8 e Figura 13). Resultados semelhantes foram observados nas respostas mecanorreflexas analisadas pela área sob a curva durante os 3 minutos de exercício passivo. O treinamento físico diminuiu significativamente os níveis de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca durante a estimulação dos mecanorreceptores (Tabela 9). Não foram observadas diferenças significativas nas respostas mecanorreflexas (área sob a curva) em relação à frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média, fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço no grupo ICT no período pós-intervenção (Tabela 9). O grupo ICNT não apresentou mudanças significativas na atividade nervosa simpática, fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular do antebraço e parâmetros hemodinâmicos após 4 meses de seguimento (Tabela 9). A comparação entre os grupos mostrou que os níveis de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca durante a estimulação dos mecanorreceptores foram significativamente menores no grupo ICT quando comparado com o grupo ICNT (Tabela 9).

Tabela 8. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares à estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 3^o min de exercício passivo e a média basal, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados.

	ICNT (n=17)		IC (n=17)	
	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>
FC (bpm)	-0,3 ± 0,4	1 ± 0,4	1 ± 0,5	1 ± 1
PAS (mmHg)	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	- 1 ± 1
PAD (mmHg)	1 ± 1	1 ± 0,3	1 ± 1	-0,2 ± 0,5
PAM (mmHg)	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	-0,3 ± 0,6#
ANSM (disparos/min)	5 ± 0,4	5 ± 1	5 ± 1	3 ± 0,4*#
ANSM (disparos/100bat)	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	4 ± 1*#
FSM (ml/min/100ml-tec)	-0,18 ± 0,06	-0,15 ± 0,07	-0,03 ± 0,06	-0,07 ± 0,05
CVA (U)	-0,21 ± 0,08	-0,18 ± 0,07	-0,05 ± 0,06	-0,07 ± 0,05

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ICT pré (p<0,05). # vs. ICNT pós (p<0,05).

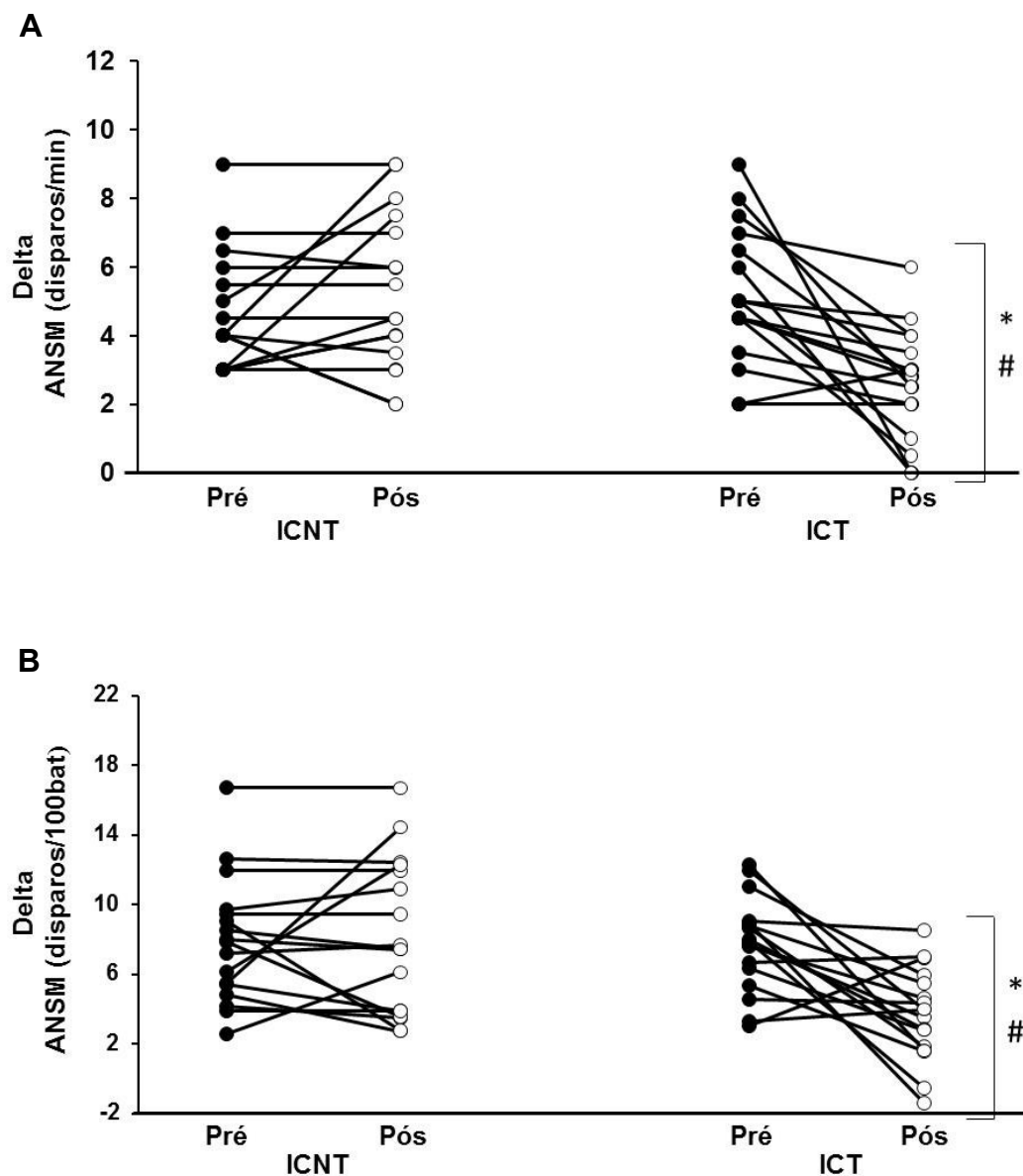


Figura 13. Sensibilidade mecanorreflexa individual, avaliada pela diferença (Δ) entre o valor absoluto no pico do exercício passivo e o valor absoluto basal, em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=17) e treinados (ICT, n=17). A) Atividade nervosa simpática muscular em disparos por minutos. B) Atividade nervosa simpática muscular corrigida por 100 batimentos. Note que o grupo ICNT apresenta respostas semelhantes no período pré e pós-seguimento, enquanto o grupo ICT apresenta diminuição significativa das respostas de atividade nervosa simpática muscular após 4 meses de treinamento físico. * vs. ICT pré ($p < 0,05$). # vs. ICNT pós ($p < 0,05$).

Tabela 9. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante estimulação dos mecanorreceptores musculares, analisadas pela área sob a curva durante os três minutos de exercício passivo, em pacientes com insuficiência cardíaca treinados e não treinados.

	ICNT (n=17)		ICT (n=17)	
	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>
FC (u)	181 ± 7	180 ± 8	185 ± 8	180 ± 5
PAS (u)	401 ± 17	415 ± 21	397 ± 12	386 ± 11
PAD (u)	217 ± 8	229 ± 10	213 ± 7	209 ± 8
PAM (u)	281 ± 10	294 ± 13	273 ± 8	270 ± 9
ANSM (u)	120 ± 5	120 ± 5	130 ± 5	104 ± 6*#
ANSM/100bat (u)	204 ± 11	206 ± 11	214 ± 11	175 ± 11*#
FSM (u)	4 ± 0,3	4 ± 0,4	5 ± 0,3	5 ± 0,3
CVA (u)	4 ± 0,4	4 ± 0,3	5 ± 0,4	6 ± 0,3

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ICT pré (p<0,05). # vs. ICNT pós (p<0,05).

4.2.3 Sensibilidade Metaborreflexa

Após 4 meses de treinamento físico, as respostas (Δ) de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca, aumentaram significativamente no grupo ICT (Tabela 10 e Figura 14). As respostas (Δ) de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média, fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço não foram alteradas neste grupo (Tabela 10). Não houve mudanças significativas no grupo ICNT em relação à atividade nervosa simpática, fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular do antebraço e parâmetros hemodinâmicos após 4 meses de seguimento (Tabela 10). Após o período experimental, a comparação entre os grupos mostrou que as respostas (Δ) de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto e corrigida pela frequência cardíaca foram significativamente maiores no grupo ICT que no grupo ICNT (Tabela 10 e Figura 14).

Tabela 10. Respostas hemodinâmicas e neurovasculares durante estimulação dos metaborreceptores musculares, analisadas pela diferença absoluta (Δ) do 1º min oclusão circulatória e a média basal, em pacientes treinados e não treinados.

	ICNT (n=17)		ICT (n=17)	
	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>	<i>Pré</i>	<i>Pós</i>
FC (bpm)	7 ± 2	6 ± 1	3 ± 1	5 ± 1
PAS (mmHg)	10 ± 2	9 ± 2	7 ± 1	10 ± 2
PAD (mmHg)	7 ± 2	5 ± 2	4 ± 1#	5 ± 1
PAM (mmHg)	9 ± 2	7 ± 2	6 ± 1#	8 ± 1
ANSM (disparos/min)	-2 ± 1	-2 ± 1	-1 ± 1	6 ± 1*#
ANSM (disparos/100bat)	-8 ± 2	- 8 ± 2	- 6 ± 1	4 ± 1*#
FSM (ml/min/100ml-tec)	0,14 ± 0,05	0,24 ± 0,07	0,24 ± 0,06	0,004 ± 0,11
CVA (U)	0,01 ± 0,07	0,14 ± 0,05	0,13 ± 0,06	0,24 ± 0,06

ICNT = pacientes com insuficiência cardíaca não treinados; ICT = pacientes com insuficiência cardíaca treinados; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ANSM = atividade nervosa simpática muscular; FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA = condutância vascular do antebraço. Valores apresentados em média ± erro padrão. * vs. ICT pré (p<0,05). # vs. ICNT pós (p<0,05).

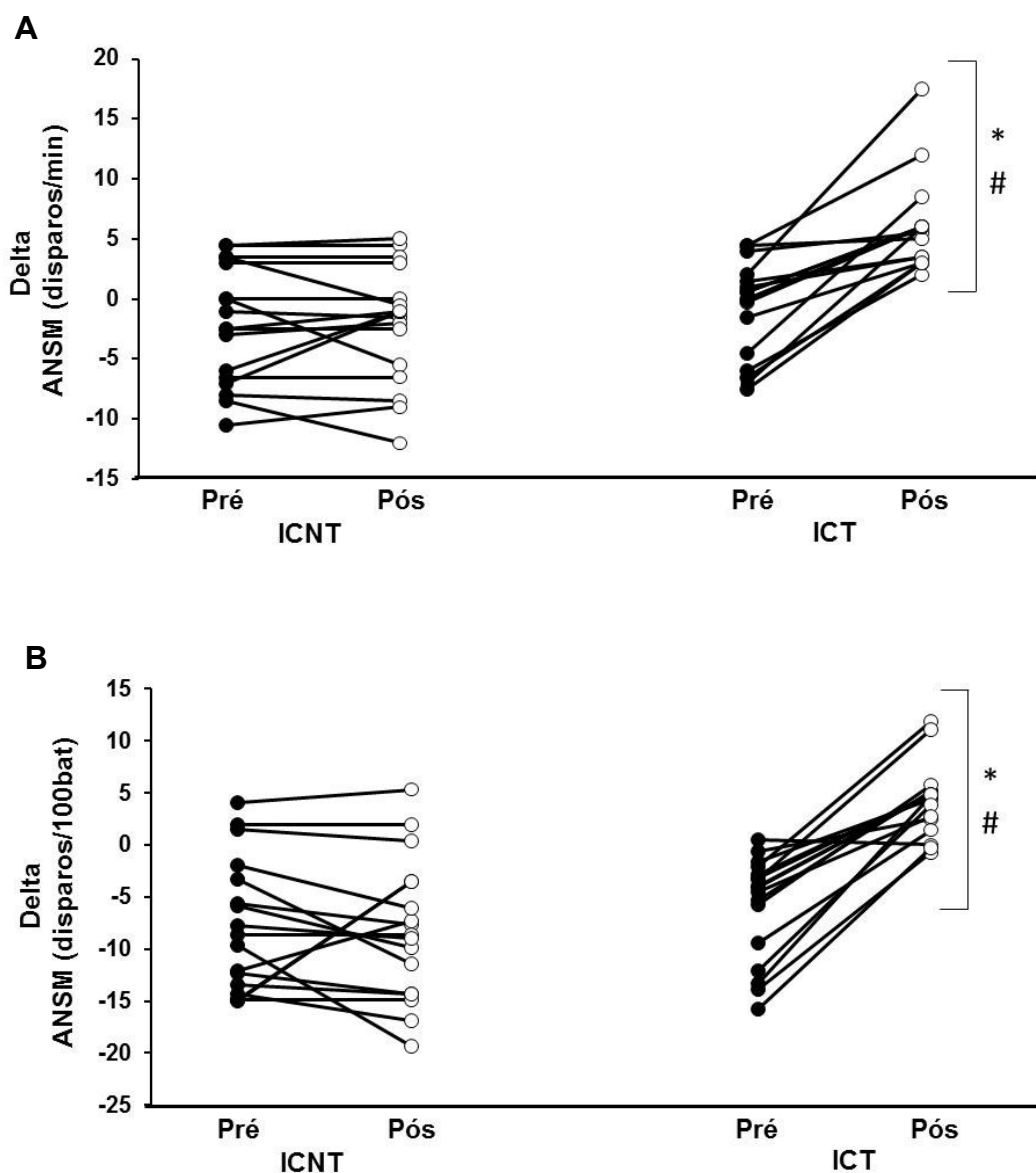


Figura 14. Sensibilidade metaborreflexa individual, avaliada pela diferença (Δ) entre o valor absoluto do 1º min de oclusão circulatória pós-exercício e o valor basal, em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=17) e treinados (ICT, n=17). A) Atividade nervosa simpática muscular em disparos por minutos. B) Atividade nervosa simpática muscular corrigida por 100 batimentos. Note que o grupo ICNT apresenta respostas semelhantes no período pré e pós-seguimento, enquanto o grupo ICT apresenta aumento significativo das respostas de atividade nervosa simpática muscular após 4 meses de treinamento físico. * vs. ICT pré ($p < 0,001$). # vs. ICNT pós ($p < 0,001$).

4.3 Associação entre a Atividade Nervosa Simpática em Repouso e a Sensibilidade Mecanorreflexa e Metaborreflexa.

Análises adicionais mostraram uma correlação positiva entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso (Δ absoluto = pós – pré-intervenção) e na sensibilidade mecanorreflexa muscular (Δ absoluto = pós – pré-intervenção) (Tabela 11). Estas análises mostraram também uma correlação negativa entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso (Δ absoluto = pós – pré-intervenção) e na sensibilidade metaborreflexa muscular (Δ absoluto = pós – pré-intervenção) (Tabela 12).

Tabela 11. Associação entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso e na sensibilidade mecanorreflexa, após seguimento clínico e treinamento físico, em pacientes com insuficiência cardíaca.

	(Δ) ANSM basal (disparos/min)	(Δ) ANSM basal (disparos/100bat)
(Δ) SMEC (disparos/min)	0,45*	
(Δ) SMEC (disparos/100bat)		0,32#

(Δ) = diferença dos valores absolutos (pós – pré); ANSM = atividade nervosa simpática muscular; SMEC = sensibilidade mecanorreflexa. (* $p < 0,05$) e (# $p = 0,07$).

Tabela 12. Associação entre as alterações na atividade nervosa simpática muscular em repouso e na sensibilidade metaborreflexa muscular, após seguimento clínico e treinamento físico, em pacientes com insuficiência cardíaca.

	(Δ) ANSM basal (disparos/min)	(Δ) ANSM basal (disparos/100bat)
(Δ) SMET (disparos/min)	-0,32#	
(Δ) SMET (disparos/100bat)		-0,35*

(Δ) = diferença dos valores absolutos (pós – pré); ANSM = atividade nervosa simpática muscular; SMET = sensibilidade metaborreflexa. (* $p < 0,05$) e (# $p = 0,07$).

4.4 Expressão Gênica da Via das Ciclooxygenases

Quando avaliamos a expressão dos genes relacionados à via das ciclooxygenases no músculo vasto lateral, observamos uma tendência à diminuição da expressão gênica da enzima COX-2 no grupo ICT após o período de treinamento físico ($P = 0,08$) (Figura 15) e uma redução significativamente na expressão gênica do receptor EP₄ (Figura 17) e do receptor TP (Figura 19). Não foram detectadas alterações significativas na expressão gênica das enzimas COX-1 (Figura 15), mPGES, PGIS e TXAS (Figura 16), e na expressão gênica dos receptores EP₁, EP₂, EP₃ (Figura 17) e IP (Figura 18) após 4 meses de treinamento físico. O grupo ICNT não apresentou alterações significativas na expressão de nenhum dos genes avaliados após o seguimento clínico. A comparação entre os grupos mostrou que a expressão da enzima COX-2 (Figura 15) e do receptor EP₄ (Figura 17) eram significativamente menores no grupo ICT comparado com o grupo ICNT.

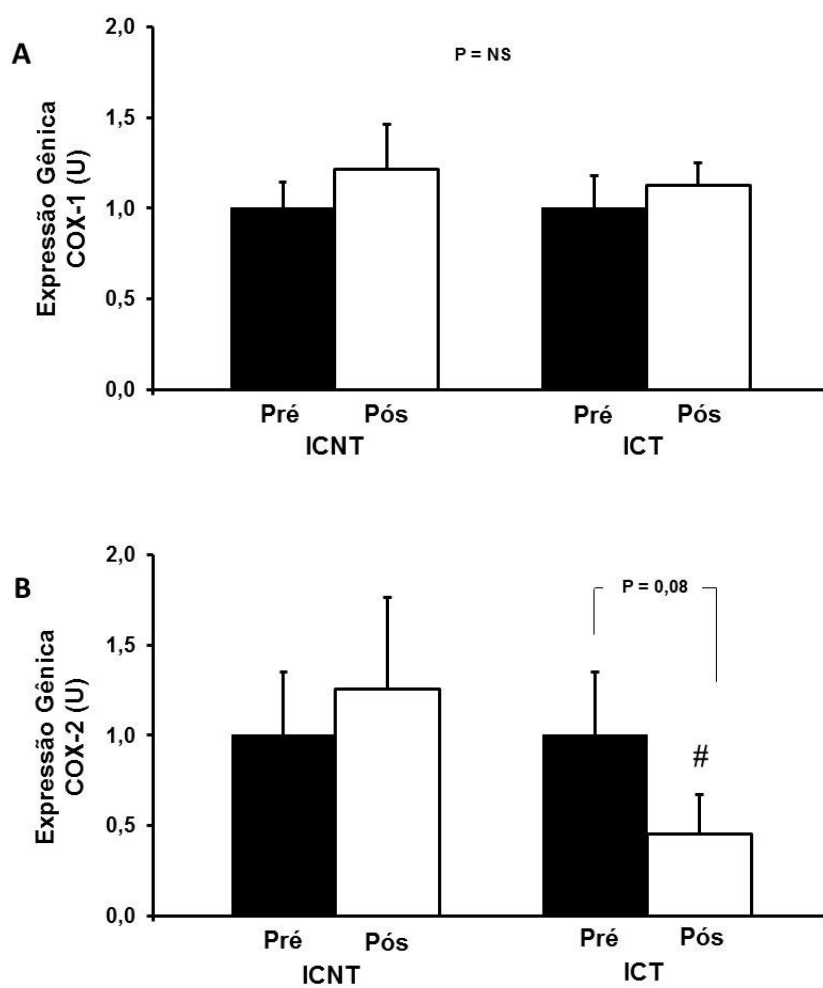


Figura 15. Expressão gênica das enzimas COX-1(A) e COX-2 (B) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12). Note que o treinamento físico diminuiu a expressão gênica da enzima COX-2. # vs. ICNT pós (p = 0,03).

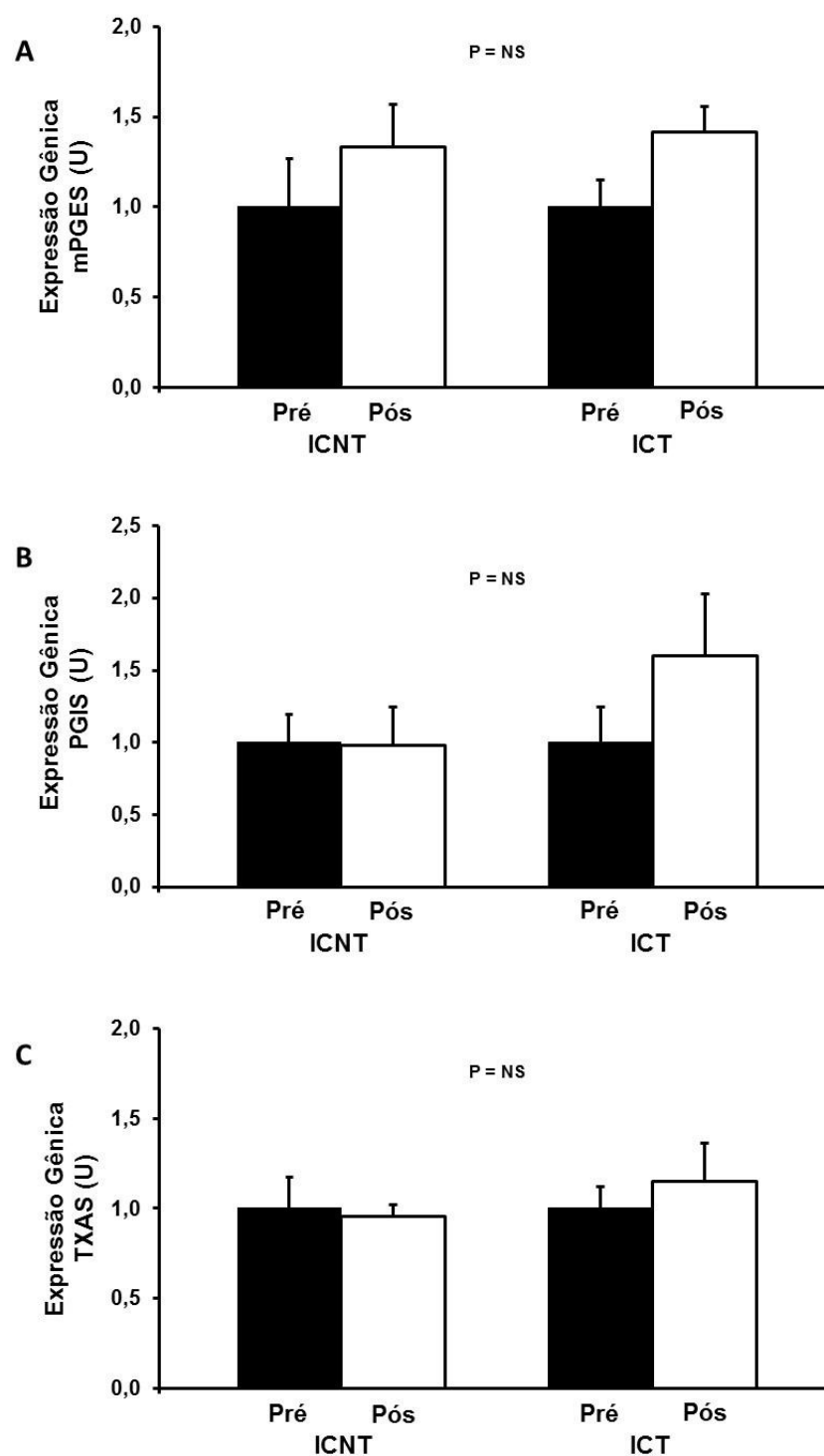
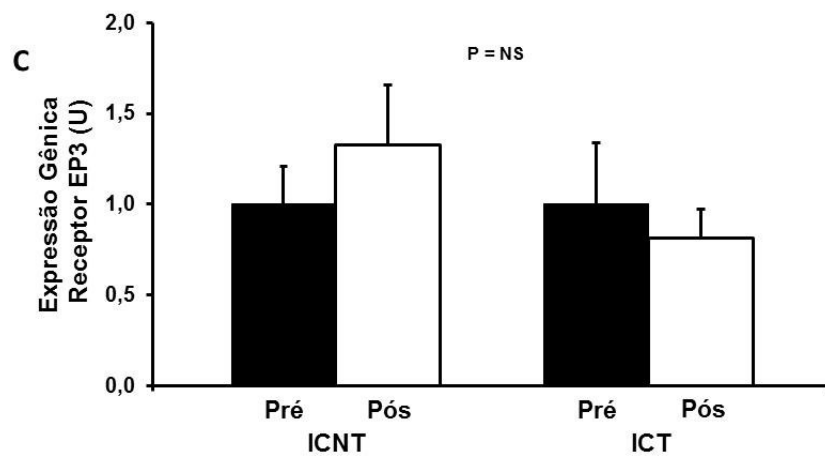
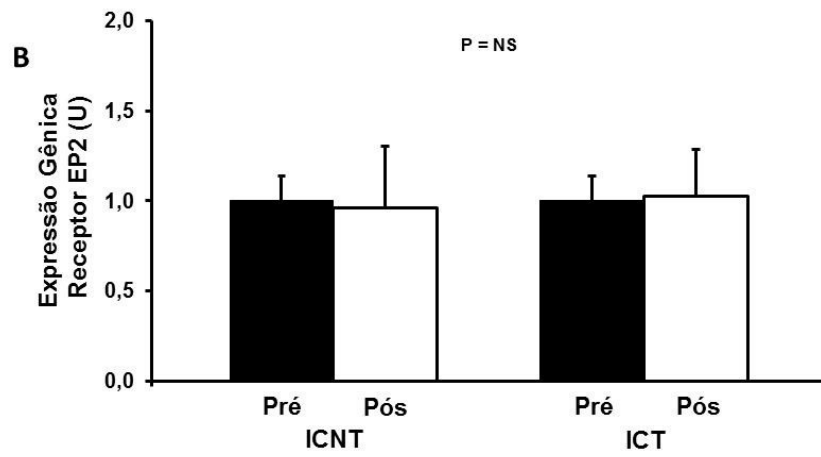
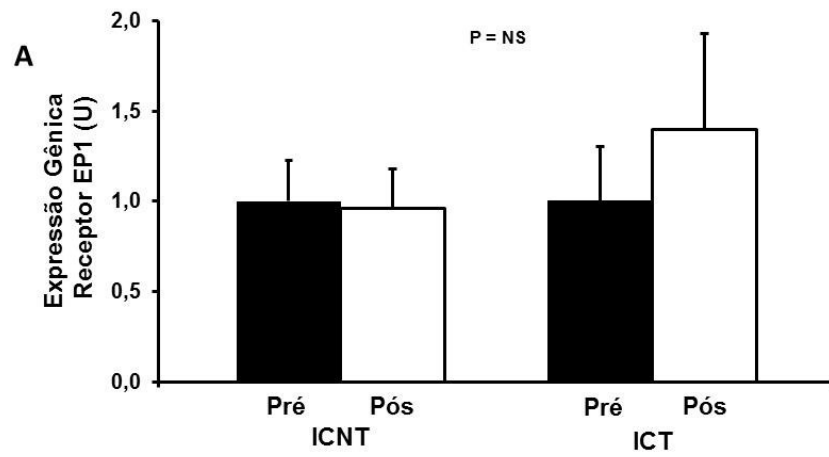


Figura 16. Expressão gênica das enzimas mPGES (A), PGIS (B) e TXAS (C) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).



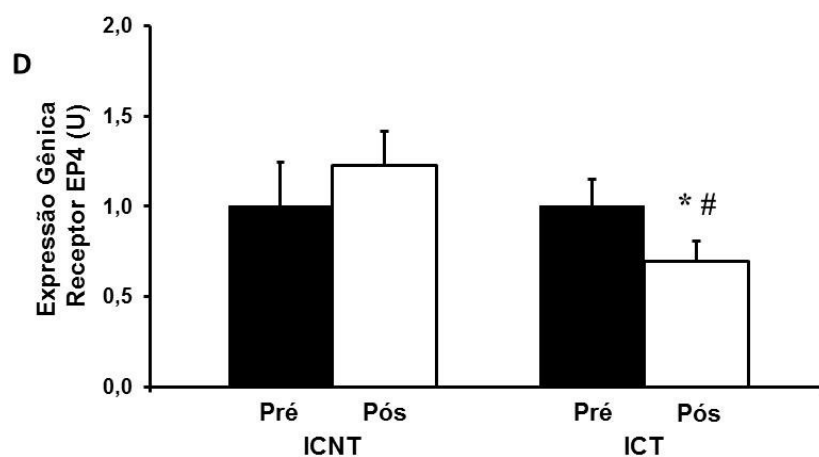


Figura 17. Expressão gênica dos receptores EP₁ (A), EP₂ (B), EP₃ (C) e EP₄ (D) no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12). Note que o treinamento físico diminuiu a expressão gênica do receptor EP₄. * vs. ICT pré (p = 0,02). # vs. ICNT pós (p = 0,01).

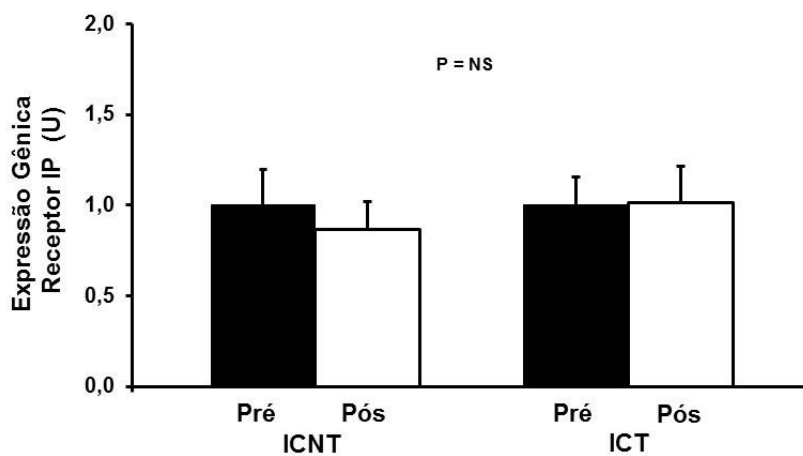


Figura 18. Expressão gênica do receptor IP no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12).

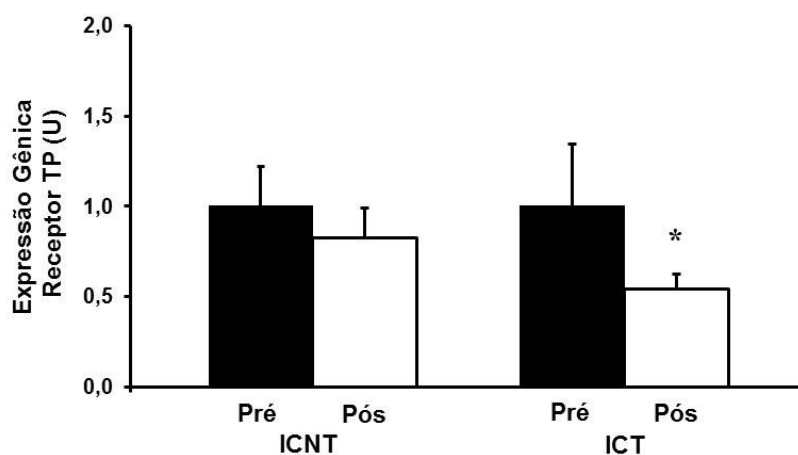


Figura 19. Expressão gênica do receptor TP no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12). * vs. ICT pré (p = 0,02).

4.5 Expressão Gênica dos Receptores TRPV1 e CB1

Após 4 meses de treinamento físico a expressão dos genes TRPV1 e CB1 no músculo vasto lateral aumentou significativamente no grupo ICT. Não foram observadas alterações na expressão destes genes no grupo ICNT. A comparação entre os grupos mostrou que o grupo ICT apresentava expressão dos genes TRPV1 e CB1 significativamente maior que o grupo ICNT pós (Figura 20 e 21).

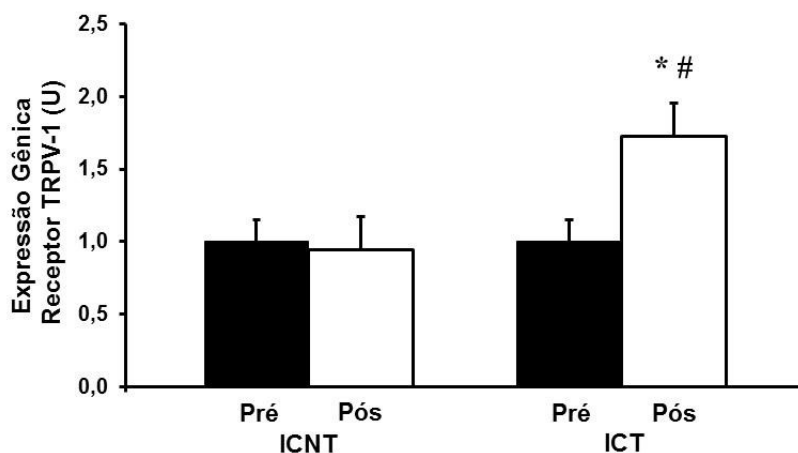


Figura 20. Expressão gênica do receptor TRPV1 no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12). Note que o treinamento físico aumentou expressivamente a expressão gênica do receptor TRPV1. * vs. ICT pré ($p = 0,02$). # vs. ICNT pós ($p = 0,04$).

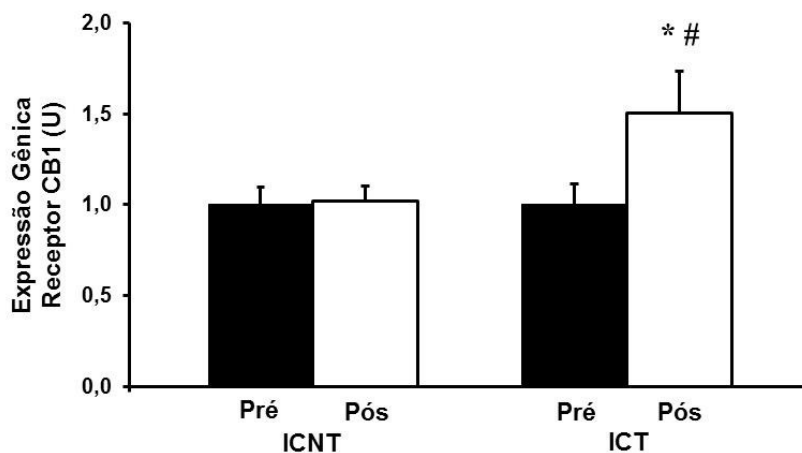


Figura 21. Expressão gênica do receptor CB1 no músculo vasto lateral em pacientes com insuficiência cardíaca não treinados (ICNT, n=11) e treinados (ICT, n=12). Note que o treinamento físico aumentou expressivamente a expressão gênica do receptor CB1. * vs. ICT pré ($p = 0,02$). # vs. ICNT pós ($p = 0,03$).

5. DISCUSSÃO

Estudos clássicos realizados na última década mostram que alterações funcionais e metabólicas do músculo esquelético provocam alterações importantes no controle ergorreflexo⁴²⁻⁴⁴. Estudos recentes mostram que a estimulação dos mecanorreceptores musculares provoca aumento reflexo exagerado da atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca^{45-47,49}. Ao contrário, o aumento na atividade nervosa simpática, provocado por estimulação dos metaborreceptores musculares, está atenuado em pacientes com insuficiência cardíaca quando comparados com indivíduos saudáveis^{46,48}. Os resultados do presente estudo ampliam os conhecimentos a este respeito nos seguintes pontos: 1) o treinamento físico diminui a sensibilidade mecanorreflexa muscular que controla a atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca; 2) o treinamento físico melhora a sensibilidade metaborreflexa muscular que controla a atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca; 3) a melhora do controle mecanorreflexo muscular em pacientes com insuficiência cardíaca parece estar associada à diminuição na expressão gênica da enzima COX-2 e do receptor EP₄ no músculo esquelético e 4) a melhora do controle metaborreflexo em pacientes com insuficiência cardíaca parece estar associada ao aumento na expressão gênica dos receptores TRPV1 e CB1 no músculo esquelético.

A hiperativação simpática é uma característica marcante na insuficiência cardíaca¹⁵. Por outro lado, dados no nosso grupo mostram que o treinamento físico diminui significativamente a atividade nervosa simpática no repouso e durante o exercício em pacientes com insuficiência cardíaca^{12,57-61,71}. Estudos em animais sugerem que esta diminuição está associada à melhora do reflexo cardiopulmonar⁷², aumento da sensibilidade barorreflexa arterial⁷³⁻⁷⁵ e diminuição da hipersensibilidade do quimiorreflexo^{76,77}. Os presentes achados dão uma nova dimensão a esta problemática. Eles sugerem que a melhora dos controles mecano e metaborreflexo muscular também

pode contribuir para desativação nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca treinados. O efeito do treinamento físico no controle ergorreflexo em pacientes com insuficiência cardíaca já foi previamente documentado⁶³. Entretanto, os investigadores se limitaram à associação do controle ergorreflexo com a ventilação pulmonar e o fluxo sanguíneo durante o exercício. Eles verificaram que o treinamento físico diminui as respostas ventilatórias e a resistência vascular durante esforço em pacientes com insuficiência cardíaca. O presente estudo mostra pela primeira vez a melhora dos controles mecanorreflexo e metaborreflexo muscular que modulam a atividade nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca após treinamento físico.

A diminuição na sensibilidade mecanorreflexa muscular após treinamento físico em pacientes com insuficiência cardíaca poderia ser logicamente antecipada, uma vez que esta resposta pode contribuir para a desativação nervosa simpática nestes pacientes. Entretanto, o aumento da sensibilidade metaborreflexa muscular após o treinamento físico chega a causar surpresa, já que essa adaptação poderia contribuir para o aumento do tráfico eferente simpático. No entanto, este aparente paradoxo pode ser explicado pelo papel contra regulatório dos metaborreceptores na sensibilidade dos mecanorreceptores musculares. Investigação recente mostra que a ablação das fibras aferentes do grupo IV (metaborreceptores) em animais saudáveis provoca aumento nas respostas mediadas pelo controle ergorreflexo⁵³. Segundo os autores, a atenuação da aferência das fibras do grupo IV promove alterações funcionais nas fibras do grupo III, fazendo com que este grupo de fibras compense a diminuição na ativação dos metaborreceptores⁵³. Portanto, um aumento na sensibilidade metaborreflexa após o treinamento físico em pacientes com insuficiência cardíaca pode ser interpretado como um efeito aditivo à diminuição da sensibilidade mecanorreflexa no controle da atividade

nervosa simpática. Esta interpretação encontra respaldo nos resultados de estudos recentes que observaram que mesmo com aumento na aferência das fibras do grupo IV, as repostas hemodinâmicas diminuem durante a estimulação do controle ergorreflexo, em animais com insuficiência cardíaca submetidos a treinamento físico^{64,65}.

Os nossos resultados não se limitam aos benefícios do treinamento físico na redução da ativação nervosa simpática muscular em resposta à ativação dos mecanorreceptores. Nós verificamos, também, que treinamento físico reduz a reposta de pressão arterial média durante o exercício passivo em pacientes com insuficiência cardíaca treinados quando comparados com pacientes não treinados. Respostas semelhantes foram previamente documentadas por outros investigadores. Wang e colaboradores⁶⁴ verificaram que as repostas de pressão arterial durante a estimulação das fibras do grupo III estão diminuídas em animais com insuficiência cardíaca submetidos a treinamento físico.

Os mecanismos envolvidos na alteração da sensibilidade mecanorreflexa na insuficiência cardíaca não estão totalmente esclarecidos. Resultados recentes mostram que a hipersensibilidade dos mecanorreceptores pode estar relacionada às prostaglandinas produzidas pelas ciclooxigenases^{51,52}. Middlekauff e colaboradores⁵¹ verificaram que a resposta de atividade nervosa simpática muscular durante exercício dinâmico leve, com ativação predominante dos mecanorreceptores, diminui significativamente após a infusão intra-arterial de indometacina (inibidor inespecífico das ciclooxigenases), em pacientes com insuficiência cardíaca. Estes resultados sugerem que as prostaglandinas, sintetizadas pelas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) estão envolvidas na hiperativação nervosa simpática reflexa, modulando os estímulos aferentes das fibras do grupo III na insuficiência cardíaca. Recentemente, um estudo mostrou que apenas a isoforma COX-2 está aumentada no músculo esquelético de

animais com insuficiência cardíaca⁵². No presente estudo, nós verificamos uma redução significativa na expressão gênica da enzima COX-2 no músculo esquelético dos pacientes com insuficiência cardíaca que participaram do programa de treinamento físico. Além disso, nós observamos que o treinamento físico diminuiu a expressão gênica do receptor EP₄ para a prostaglandina PGE₂. Apesar de nós não termos avaliado a PGE₂, podemos sugerir que esta prostaglandina contribui para a diminuição da sensibilidade mecanorreflexa em pacientes com insuficiência cardíaca treinados. Este é um tópico a ser ainda estudado.

Ao contrário da sensibilidade dos mecanorreceptores musculares, a sensibilidade dos metaborreceptores musculares, via fibras do grupo IV, está diminuída na insuficiência cardíaca^{46,48}. Além disso, esta alteração pode estar relacionada aos receptores TRPV1 e CB1^{53,54}. Smith e colaboradores⁵³ observaram que a expressão do receptor TRPV1 está diminuída nos gânglios da raiz dorsal e no músculo esquelético de animais com cardiomiopatia isquêmica. Estes animais apresentam respostas hemodinâmicas diminuídas durante a estimulação das fibras do grupo IV muscular. A causa da diminuição da expressão do receptor TRPV1 é desconhecida. No entanto, a diminuição de fluxo sanguíneo e a miopatia esquelética podem contribuir para alterações químicas locais que alteram o pH e, com isso, a função do receptor TRPV1⁵³. Este mesmo grupo de investigadores mostrou que os receptores canabinóides do tipo 1 (CB1), co-localizados aos receptores TRPV1 nas fibras do grupo IV, são menos responsivos em animais com cardiomiopatia isquêmica que em animais saudáveis, o que sugere que os receptores CB1 também podem estar envolvidos na sensibilidade metaborreflexa diminuída na insuficiência cardíaca⁵⁴. O nosso estudo mostrou que o treinamento físico aumenta a expressão gênica do receptor TRPV1 e do receptor co-localizado CB1 em pacientes com insuficiência cardíaca submetidos a treinamento

físico. Estes resultados são sugestivos de que a melhora no controle metaborreflexo em pacientes com insuficiência cardíaca pode ser devida ao aumento na expressão do receptor TRPV1 e do receptor co-localizado CB1. Recentemente, outros autores mostraram aumento na expressão dos receptores TRPV1 após o treinamento físico em modelo animal de insuficiência cardíaca⁶⁵.

Como o treinamento físico diminuiu a resposta reflexa de atividade nervosa simpática ao exercício passivo, alguém poderia antecipar que o nosso paradigma baseado em treinamento físico deveria provocar aumento no fluxo sanguíneo muscular durante a estimulação dos mecanorreceptores. Isto não aconteceu no nosso estudo. Explicações para esta resposta estão fora do escopo da presente investigação. Entretanto, nós podemos sugerir algumas possibilidades para este fato. Primeiro, o exercício passivo, manobra fisiológica utilizada durante o protocolo de estimulação dos mecanorreceptores, é insuficiente para aumentar significativamente o fluxo sanguíneo muscular. Segundo, conhecendo que o fluxo sanguíneo muscular envolve um balanço entre a força vasoconstritora, mediada pela atividade nervosa simpática, e as forças vasodilatadoras, mediada por fatores endoteliais, é possível imaginar que o aumento da atividade nervosa simpática muscular, durante a estimulação dos mecanorreceptores, mesmo que diminuída pelo treinamento físico, limite a função vascular endotélio-dependente. Resultados semelhantes foram verificados no controle metaborreflexo. A melhora no controle metaborreflexo não se refletiu em alteração na resposta de fluxo sanguíneo muscular durante a estimulação dos metaborreceptores. Neste caso, é possível que o grande volume de sangue represado no músculo da perna durante a oclusão circulatória pós-exercício, influencie a resposta hemodinâmica sistêmica, o que poderia influenciar o fluxo sanguíneo no antebraço. Outra possibilidade é que a melhora no controle metaborreflexo representa um aumento na resposta de atividade nervosa

simpática, o que poderia levar a um desbalanço em favor da força vasoconstritora em relação às forças vasodilatadoras mediadas pelo endotélio. Consideramos que este é um assunto de muito interessante para futuras investigações

Confirmando resultados anteriores do nosso grupo, o treinamento físico diminuiu significativamente a atividade nervosa simpática muscular, em pacientes com insuficiência cardíaca. Na realidade, esta alteração autonômica tem sido um marcador importante de treinamento físico nestes pacientes. O treinamento físico reduz a atividade nervosa simpática independentemente da idade, sexo ou uso de betabloqueador^{12,57-61}. A novidade do presente estudo é a associação entre a redução do tráfego eferente simpático e a alteração na sensibilidade mecano e metaborreflexa muscular. Nossos dados mostram uma correlação positiva entre a atividade nervosa simpática e a sensibilidade mecanorreflexa. Além disso, verificamos uma correlação inversa entre os níveis de atividade nervosa simpática e a sensibilidade metaborreflexa muscular. Em conjunto, estes achados reforçam o papel contra regulatório dos metaborreceptores nos mecanorreceptores e, sobretudo, a contribuição desses receptores musculares na desativação nervosa simpática em pacientes com insuficiência cardíaca.

Outro ponto importante para ressaltar em nosso estudo é a melhora da resistência vascular periférica e da capacidade funcional em pacientes com insuficiência cardíaca após o treinamento físico. Estes resultados confirmam achados anteriores do nosso grupo^{12,57-61}. Uma maior perfusão no músculo esquelético aumenta a oferta de nutrientes, reduz os níveis de espécies reativas de oxigênio e citocinas inflamatórias e, em consequência, melhora as alterações metabólicas e estruturais nas fibras musculares na insuficiência cardíaca¹⁵. Em conjunto, estas mudanças fisiológicas resultam em melhora na tolerância aos esforços, na qualidade de vida e, possivelmente, no prognóstico de vida do paciente com insuficiência cardíaca.

5.1 Implicações Clínicas

A melhora na aferência muscular esquelética tem implicações clínicas importantes para o paciente com insuficiência cardíaca. As contrações musculares fazem parte do cotidiano do ser humano, mesmo em pacientes debilitados, como aqueles com insuficiência cardíaca. Este comportamento aumenta reflexamente o tráfico eferente simpático via ativação dos mecano e metaorreceptores musculares, o que sabidamente está alterado na insuficiência cardíaca. Portanto, uma melhora na sensibilidade do controle ergorreflexo pode contribuir para a diminuição da atividade nervosa simpática nestes pacientes. Esta modulação autonômica, alcançada pelo treinamento físico, melhora a vasoconstrição periférica, a tolerância aos esforços e a qualidade de vida do paciente com insuficiência cardíaca. Além disso, a atividade nervosa simpática muscular é um fator independente de mortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca⁶². Portanto, uma melhora na sensibilidade do controle ergorreflexo pode contribuir para a redução da exacerbação simpática e talvez para a sobrevida destes pacientes.

5.2 Limitações

Apesar do exercício passivo ter sido realizado sempre pelo mesmo avaliador e o paciente ser orientado para relaxar a perna, não é possível excluir a contribuição do comando central durante este exercício. Por outro lado, o exercício passivo é uma manobra fisiológica efetiva para ativar os mecanorreceptores musculares que tem sido utilizada em investigações em humanos⁷⁸. Durante a oclusão circulatória pós-exercício, alguém poderia questionar sobre a estimulação das fibras sensitivas a dor, o que poderia influenciar a nossa interpretação da ativação reflexa da atividade nervosa simpática pela estimulação dos metaborreceptores musculares. Esta manobra no entanto, tem sido

usada com frequência e reprodutibilidade em estudos com humanos⁷⁸. Para descartar esta suposição, nós submetemos três pacientes à oclusão circulatória após 3 minutos de repouso. Nesta condição experimental, nós não verificamos alterações nos níveis de atividade nervosa simpática (dados não mostrados), o que corrobora a ideia de que as fibras sensitivas não influenciaram os nossos resultados. Alguém poderia levantar ainda, a questão de que o uso do medicamento AAS (ácido acetilsalicílico), um inibidor das enzimas COX-1 e COX-2, poderia influenciar os nossos resultados. Este não parece o caso em nosso estudo, uma vez que a distribuição de pacientes que faziam uso deste medicamento era semelhante nos dois grupos investigados. Além disso, não houve diferença na sensibilidade mecanorreflexa entre pacientes que usavam ou não AAS antes e após o treinamento físico (dados não apresentados).

6. CONCLUSÃO

A diminuição na sensibilidade mecanorreflexa e o aumento na sensibilidade metaborreflexa muscular podem explicar, pelo menos em parte, a diminuição da atividade nervosa simpática e a melhora na tolerância aos esforços em pacientes com insuficiência cardíaca submetidos a treinamento físico. A melhora no controle mecanorreflexo pode estar associadas às alterações na expressão gênica da enzima COX-2 e receptor EP₄, e as alterações no controle metaborreflexo parecem estar associadas aos receptores TRPV1 e CB1.

7. REFERÊNCIAS

1. Dunlay SM, Redfield MM, Weston SA, Therneau TM, Hall Long K, Shah ND, Roger VL. Hospitalizations after heart failure diagnosis a community perspective. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:1695–702.
2. McMurray JJ V, Pfeffer MA. Heart failure. *Lancet*. 2005;365:1877–89.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125:188–97.
4. Ho KKL, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:6A–13A.
5. Bocchi EA, Braga FGM, Ferreira SMA, Rohde LEP, Oliveira WA de, Almeida DR de, Moreira M da CV, Bestetti RB, Bordignon S, Azevedo C, Tinoco EM, Rocha RM, Issa VS, Ferraz A, Cruz FD, Guimarães GV, Montera VDSP, Albuquerque DC, Bacal F, Souza GEC, Rossi Neto JM, Clausell NO, Martins SM, Siciliano A, Souza Neto JD de, Moreira LF, Teixeira RA, Moura LZ, Beck-da-Silva L, Rassi S, Azeka E, Horowitz E, Ramires F, Simões MV, Castro RBP de, Salemi VMC, Villacorta Junior H, Vila JH, Simões R, Albanesi F, Montera MW. III Brazilian Guidelines on Chronic Heart Failure. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93:3–70.

6. Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Bacal F, Ferraz AS, Albuquerque D, Rodrigues D de A, Mesquita ET, Vilas-Boas F, Cruz F, Ramires F, Villacorta H, De Souza Neto JD, Rossi Neto JM, Moura LZ, Beck-da-Silva L, Moreira LF, Rohde LEP, Montera MW, Simões MV, Moreira M da C, Clausell N, Bestetti R, Mourilhe-Rocha R, Mangini S, Rassi S, Ayub-Ferreira SM, Martins SM, Bordignon S, Issa VS. Updating of III Brazilian Guidelines on Chronic Heart Failure. *Arq Bras Cardiol.* 2012;98:1–33.
7. Clark AL, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Exercise limitation in chronic heart failure: central role of the periphery. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28:1092–102.
8. Pina IL. Exercise and Heart Failure: A Statement From the American Heart Association Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention. *Circulation.* 2003;107:1210–1225.
9. Myers J, Froelicher VF. Hemodynamic determinants of exercise capacity in chronic heart failure. *Ann Intern Med.* 1991;115:377–86.
10. Wilson JR, Rayos G, Yeoh TK, Gothard P. Dissociation between peak exercise oxygen consumption and hemodynamic dysfunction in potential heart transplant candidates. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26:429–35.
11. Nilsson KR, Duscha BD, Hranitzky PM, Kraus WE. Chronic Heart Failure and Exercise Intolerance: The Hemodynamic Paradox. *Curr Cardiol Rev.* 2008;4:92–100.
12. Fraga R, Franco FG, Roveda F, De Matos LNJ, Braga AMFW, Rondon MUPB, Rotta DR, Brum PC, Barretto ACP, Middlekauff HR, Negrão CE. Exercise training reduces sympathetic nerve activity in heart failure patients treated with carvedilol. *Eur J Heart Fail.* 2007;9:630–6.

13. Braunwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation*. 2000;102:IV14–23.
14. Esler M, Kaye D. Measurement of sympathetic nervous system activity in heart failure: the role of norepinephrine kinetics. *Heart Fail Rev*. 2000;5:17–25.
15. Negrao CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2008;13:51–60.
16. Ferguson DW, Berg WJ, Roach PJ, Oren RM, Mark AL. Effects of heart failure on baroreflex control of sympathetic neural activity. *Am J Cardiol*. 1985;69:16B–18B.
17. Al-Hesayen A, Parker JD. Impaired baroreceptor control of renal sympathetic activity in human chronic heart failure. *Circulation*. 2004;109:2862–5.
18. Zucker IH, Schultz HD, Li Y-F, Wang Y, Wang W, Patel KP. The origin of sympathetic outflow in heart failure: the roles of angiotensin II and nitric oxide. *Prog Biophys Mol Biol*. 2004;84:217–32.
19. Wang W, Zhu G-Q, Gao L, Tan W, Qian Z-M. Baroreceptor reflex in heart failure. *Acta Physiol Sinica*. 2004;56:269–81.
20. Dibner-Dunlap ME, Thames MD. Control of sympathetic nerve activity by vagal mechanoreflexes is blunted in heart failure. *Circulation*. 1992;86:1929–1934.
21. Modesti PA, Polidori G, Bertolozzi I, Vanni S, Cecioni I. Impairment of cardiopulmonary receptor sensitivity in the early phase of heart failure. *Heart (British Cardiac Society)*. 2004;90:30–6.
22. Schultz HD, Li YL. Carotid body function in heart failure. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007;157:171–85.

23. Narkiewicz K, Pesek CA, Van de Borne PJ, Kato M, Somers VK. Enhanced sympathetic and ventilatory responses to central chemoreflex activation in heart failure. *Circulation*. 1999;100:262–7.
24. Di Vanna A, Braga AMFW, Laterza MC, Ueno LM, Rondon MUPB, Barretto ACP, Middlekauff HR, Negrão CE. Blunted muscle vasodilatation during chemoreceptor stimulation in patients with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H846–52.
25. Sun SY, Wang W, Zucker IH, Schultz HD. Enhanced activity of carotid body chemoreceptors in rabbits with heart failure: role of nitric oxide. *J Appl Physiol*. 1999;86:1273–82.
26. Li Y-L, Xia X-H, Zheng H, Gao L, Li Y-F, Liu D, Patel KP, Wang W, Schultz HD. Angiotensin II enhances carotid body chemoreflex control of sympathetic outflow in chronic heart failure rabbits. *Cardiovasc Res*. 2006;71:129–38.
27. Goodwin GM, McCloskey DI, Mitchell JH. Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *J Physiol*. 1972;226:173–90.
28. McCloskey DI, Mitchell JH. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol*. 1972;224:173–86.
29. Mitchell JH, Kaufman MP, Iwamoto GA. The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. *Annu Ver Physiol*. 1983;45:229–42.
30. Rowell LB, O’Leary DS. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol*. 1990;69:407–18.
31. Kaufman MP, Hayes SG. The exercise pressor reflex. *Clin Auton Res*. 2002;12:429–39.

32. Kaufman MP. The exercise pressor reflex in animals. *Exp Physiol*. 2012;97:51–8.
33. Mitchell JH. Neural control of the circulation during exercise: insights from the 1970-1971 Oxford studies. *Exp Physiol*. 2012;97:14–9.
34. Smith SA, Mitchell JH, Garry MG. The mammalian exercise pressor reflex in health and disease. *Exp Physiol*. 2006;91:89–102
35. Hayes SG, Kindig AE, Kaufman MP. Cyclooxygenase blockade attenuates responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise in cats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H2239–46.
36. Rotto DM, Hill JM, Schultz HD, Kaufman MP. Sensitization of group III muscle afferents to static contraction by arachidonic acid. *Am J Physiol*. 1990;259:H745–50.
37. Middlekauff HR, Chiu J. Cyclooxygenase products sensitize muscle mechanoreceptors in healthy humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287:H1944–9.
38. Rotto DM, Hill JM, Schultz HD, Kaufman MP. Cyclooxygenase blockade attenuates responses of group IV muscle afferents to static contraction. *Am J Physiol*. 1990;259:H745–50.
39. Cui J, Moradkhan R, Mascarenhas V, Momen A, Sinoway LI. Cyclooxygenase inhibition attenuates sympathetic responses to muscle stretch in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H2693–700.
40. Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev of Biochem*. 2000;69:145–82.
41. Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, Breyer MD. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001;41:661–90.

42. Coats a J, Clark AL, Piepoli M, Volterrani M, Poole-Wilson PA. Symptoms and quality of life in heart failure: the muscle hypothesis. *Br Heart J*. 1994;72:S36–9.
43. Coats AJ. The “muscle hypothesis” of chronic heart failure. *J Mol Cel Cardiol*. 1996;28:2255–62.
44. Piepoli M, Ponikowski P, Clark AL, Banasiak W, Capucci A, Coats AJ. A neural link to explain the “muscle hypothesis” of exercise intolerance in chronic heart failure. *Am Heart J*. 1999;137:1050–1056.
45. Middlekauff HR, Chiu J, Hamilton MA, Fonarow GC, Maclellan WR, Hage A, Moriguchi J, Patel J. Muscle mechanoreceptor sensitivity in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287:H1937–43.
46. Negrão CE, Rondon MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barretto AC, Krieger EM, Middlekauff HR. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280:H1286–92.
47. Middlekauff HR, Nitzsche EU, Hoh CK, Hamilton MA, Fonarow GC, Hage A, Moriguchi JD. Exaggerated muscle mechanoreflex control of reflex renal vasoconstriction in heart failure. *J Appl Physiol*. 2001;90:1714–9.
48. Sterns DA, Ettinger SM, Gray KS, Whisler SK, Mosher TJ, Smith MB, Sinoway LI. Skeletal muscle metaboreceptor exercise responses are attenuated in heart failure. *Circulation*. 1991;84:2034–9.
49. Middlekauff HR, Sinoway LI. Increased mechanoreceptor stimulation explains the exaggerated exercise pressor reflex seen in heart failure. *J Appl Physiol*. 2007;102:492–4.
50. Scott AC. Chemical Mediators of the Muscle Ergoreflex in Chronic Heart Failure: A Putative Role for Prostaglandins in Reflex Ventilatory Control. *Circulation*. 2002;106:214–220.

51. Middlekauff HR, Chiu J, Hamilton MA, Fonarow GC, Maclellan WR, Hage A, Moriguchi J, Patel J. Cyclooxygenase products sensitize muscle mechanoreceptors in humans with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H1956–62.
52. Morales A, Gao W, Lu J, Xing J, Li J. Muscle cyclo-oxygenase-2 pathway contributes to the exaggerated muscle mechanoreflex in rats with congestive heart failure. *Exp Physiol*. 2012;97:943–54.
53. Smith SA, Williams MA, Mitchell JH, Mammen PPA, Garry MG. The capsaicin-sensitive afferent neuron in skeletal muscle is abnormal in heart failure. *Circulation*. 2005;111:2056–65.
54. Williams MA, Smith SA, O'Brien DE, Mitchell JH, Garry MG. The group IV afferent neuron expresses multiple receptor alterations in cardiomyopathic rats: evidence at the cannabinoid CB1 receptor. *J Physiol*. 2008;586:835–45.
55. Coats AJ, Adamopoulos S, Meyer TE, Conway J, Sleight P. Effects of physical training in chronic heart failure. *Lancet*. 1990;335:63–6.
56. Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G, Purcaro A. Randomized, controlled trial of long-term moderate exercise training in chronic heart failure: effects on functional capacity, quality of life, and clinical outcome. *Circulation*. 1999;99:1173–82.
57. De Mello Franco FG, Santos AC, Rondon MUP, Trombetta IC, Strunz C, Braga AMW, Middlekauff H, Negrão CE, Pereira Barretto AC. Effects of home-based exercise training on neurovascular control in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2006;8:851–5.
58. Roveda F, Middlekauff HR, Rondon MUP, Reis SF, Souza M, Nastari L, Barretto ACP, Krieger EM, Negrão CE. The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:854–860.

59. Ueno LM, Drager LF, Rodrigues ACT, Rondon MUPB, Braga AMFW, Mathias W, Krieger EM, Barretto ACP, Middlekauff HR, Lorenzi-Filho G, Negrão CE. Effects of exercise training in patients with chronic heart failure and sleep apnea. *Sleep*. 2009;32:637–47.
60. Antunes-Correa LM, Melo RC, Nobre TS, Ueno LM, Franco FGM, Braga AMW, Rondon MUPB, Brum PC, Barretto ACP, Middlekauff HR, Negrão CE. Impact of gender on benefits of exercise training on sympathetic nerve activity and muscle blood flow in heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2010;12:58–65.
61. Antunes-Correa LM, Kanamura BY, Melo RC, Nobre TS, Ueno LM, Franco FG, Roveda F, Braga AM, Rondon MU, Brum PC, Barretto AC, Middlekauff HR, Negrão CE. Exercise training improves neurovascular control and functional capacity in heart failure patients regardless of age. *Eur J Prev Cardiol*. 2012;19:822–9.
62. Barretto ACP, Santos AC, Munhoz R, Rondon MUPB, Franco FG, Trombetta IC, Roveda F, De Matos LNJ, Braga AMW, Middlekauff HR, Negrão CE. Increased muscle sympathetic nerve activity predicts mortality in heart failure patients. *Int J Cardiol*. 2009;135:302–7.
63. Piepoli M, Clark AL, Volterrani M, Adamopoulos S, Sleight P, Coats AJS. Contribution of Muscle Afferents to the Hemodynamic, Autonomic, and Ventilatory Responses to Exercise in Patients With Chronic Heart Failure: Effects of Physical Training. *Circulation*. 1996;93:940–952.
64. Wang H-J, Pan Y-X, Wang W-Z, Gao L, Zimmerman MC, Zucker IH, Wang W. Exercise training prevents the exaggerated exercise pressor reflex in rats with chronic heart failure. *J Appl Physiol*. 2010;108:1365–75.
65. Wang H-J, Li Y-L, Zucker IH, Wang W. Exercise training prevents skeletal muscle afferent sensitization in rats with chronic heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;302:R1260–70.

66. Skinner JS, McLellan TH. The transition from aerobic to anaerobic metabolism. *Res Q Exerc Sport*. 1980;51:234–48.
67. Guazzi M, Reina G, Tumminello G, Guazzi MD. Improvement of alveolar-capillary membrane diffusing capacity with exercise training in chronic heart failure. *J Appl Physiol*. 2004;97:1866–73.
68. Wallin BG. Assessment of sympathetic mechanisms from recordings of postganglionic efferent nerve traffic. In: Hainsworth R M AL, editor. Cardiovascular reflex control in health and disease. London: W.B. Saunders Company Ltd. 1993; p. 65–93.
69. Guelen I, Westerhof BE, Van Der Sar GL, Van Montfrans GA, Kiemeneij F, Wesseling KH, Bos WJ. Finometer, finger pressure measurements with the possibility to reconstruct brachial pressure. *Blood Press Monit*. 2003;8:27–30.
70. Tai MM. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diab Care*. 1994;17:152–4.
71. Soares-Miranda L, Franco FGM, Roveda F, Martinez DG, Rondon MUPB, Mota J, Brum PC, Antunes-Correa LM, Nobre TS, Barretto ACP, Middlekauff HR, Negrao CE. Effects of exercise training on neurovascular responses during handgrip exercise in heart failure patients. *Int J Cardiol*. 2011;146:122–5.
72. Pliquett RU, Cornish KG, Patel KP, Schultz HD, Peuler JD, Zucker IH. Amelioration of depressed cardiopulmonary reflex control of sympathetic nerve activity by short-term exercise training in male rabbits with heart failure. *J Appl Physiol*. 2003;95:1883–8.
73. Liu JL, Irvine S, Reid IA, Patel KP, Zucker IH. Chronic exercise reduces sympathetic nerve activity in rabbits with pacing-induced heart failure: A role for angiotensin II. *Circulation*. 2000;102:1854–62.

74. Liu J-L, Kulakofsky J, Zucker IH. Exercise training enhances baroreflex control of heart rate by a vagal mechanism in rabbits with heart failure. *J Appl Physiol*. 2002;92:2403–8.
75. Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MUPB, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR, Negrão CE. Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H2801–6.
76. Schultz HD, Sun SY. Chemoreflex function in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2000;5:45–56.
77. Li Y-L, Ding Y, Agnew C, Schultz HD. Exercise training improves peripheral chemoreflex function in heart failure rabbits. *J Appl Physiol*. 2008;105:782–90.
78. Scott AC, Francis DP, Coats AJS, Piepoli MF. Reproducibility of the measurement of the muscle ergoreflex activity in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2003;5:453–61.