



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

NATÁLIA MARIA PERSEGUINI

**ESTUDO DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA NO
PROCESSO DE ENVELHECIMENTO E SUAS RELAÇÕES
COM A TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL, PROTEÍNA
C-REATIVA E COMPRIMENTO DE TELÔMEROS**

São Carlos

2014

NATÁLIA MARIA PERSEGUINI

**ESTUDO DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA NO
PROCESSO DE ENVELHECIMENTO E SUAS RELAÇÕES COM A
TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL, PROTEÍNA C-REATIVA E
COMPRIMENTO DE TELÔMEROS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Fisioterapia, área de concentração:
Processos de Avaliação e Intervenção em Fisioterapia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Aparecida Maria Catai

São Carlos

2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

P466em Persequini, Natália Maria.
Estudo da modulação autonômica cardíaca no processo de envelhecimento e suas relações com a terapia de reposição hormonal, proteína C-reativa e comprimento de telômeros / Natália Maria Persequini. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
100 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Fisioterapia. 2. Fisioterapia cardiovascular. 3. Variabilidade da frequência cardíaca. 4. Proteína C-reativa. 5. Telômeros. 6. Terapia de reposição hormonal. I. Título.

CDD: 615.82 (20^a)

FOLHA DE APROVAÇÃO

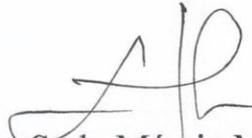
Membros da Banca Examinadora para Defesa de Tese de Doutorado de NATÁLIA MARIA PERSEGUINI, apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 06 de Junho de 2014.

Banca Examinadora



Prof. Dra. Aparecida Maria Catai

(UFSCar)



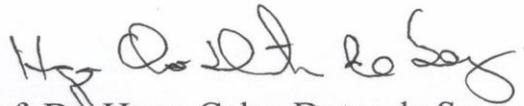
Prof. Dra. Stela Márcia Mattiello

(UFSCar)



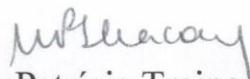
Prof. Dra. Katia de Angelis Lobo D Avila

(Uninove)



Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

(USP-RP)



Prof. Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil

(Unicamp)

Investigação conduzida no Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular - Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em colaboração com: *Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute da Università degli Studi di Milano/Itália*, Laboratório de Pesquisa em Performance Humana da Universidade Metodista de Piracicaba e Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP.

Projeto desenvolvido com apoio CAPES (3 meses de Bolsa) e FAPESP (2010/52703-7, Bolsa e 2010/52070-4, Auxílio Pesquisa).

Dedico este trabalho à minha filha Beatriz, por me proporcionar a maravilhosa experiência de ser mãe e me mostrar que a felicidade está nos momentos mais simples da vida; e ao meu marido Anibal, pelo apoio e companheirismo incondicionais.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”
(Madre Teresa de Calcutá)*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar e iluminar meus passos para mais esta conquista, me abençoando com a presença de pessoas importantes não só para a realização deste trabalho, mas também em minha vida pessoal.

À minha amada filha Beatriz, cuja alegria e inocência me renovam a cada dia. Agradeço por me proporcionar a sensação do amor verdadeiro e a felicidade de poder cuidar deste anjo que Deus me confiou.

Ao meu marido Anibal, por estar sempre ao meu lado, me amparando mesmo nos momentos mais difíceis. Obrigada pelo amor e companheirismo, e por compartilhar comigo os momentos mais felizes da minha vida.

Aos meus pais Durval e Neuza, por me transmitirem a importância de uma família e valores que levarei para toda a vida. Agradeço pelo apoio e incentivo para que eu alcançasse mais esta conquista.

À minha orientadora e amiga Profa. Dra. Aparecida Maria Catai, a grande responsável por despertar meu interesse pelo mundo científico. Agradeço pelos ensinamentos desde a graduação, época em que me acolheu no laboratório, como aluna de iniciação científica, onde estou até hoje. Mas agradeço, principalmente, pelo carinho de todos esses anos. Obrigada por ser um exemplo de mulher e de profissional, no qual sempre me espelharei.

Às minhas irmãs Juliana e Paula e ao meu cunhado Fábio, por todo o apoio, entendendo minhas ausências quando necessário. Agradeço a Deus por ter a certeza de que estarão sempre presentes em todos os momentos de minha vida.

Às minhas amadas sobrinhas Maria Laura e Alice e afilhada Ana, que ajudam a renovar minhas esperanças no que há por vir.

Aos meus tios, tias, primos e primas. Em especial à minha Tia Bete que há pouco nos deixou, mas me transmitiu a alegria de viver e a importância de lutar pela vida. Guardarei com carinho as boas lembranças dos momentos que compartilhamos, na certeza de que estará olhando por sua família onde quer que esteja.

Aos meus sogros Aparecida e Vicente, pela agradável convivência. E aos meus cunhados Edgard e Flávia, por me confiarem o prazer de amadrinhar nossa pequena Alice.

Aos grandes amigos e companheiros de laboratório, Juliana, Vinicius (Torrinha) e Patrícia, por compartilharem não só os momentos de trabalho exaustivo, nos quais estavam sempre dispostos a ajudar, mas também os momentos alegres e divertidos, que não foram poucos. Para mim, essa parceria é incentivadora, pois, com certeza, o trabalho se torna muito mais prazeroso na presença de amigos.

Aos amigos de sempre: Savana, Jorge, Flavia, Júnior e Adriano. Agradeço pela amizade verdadeira de tantos anos e por todos os momentos de alegrias e risadas, que me renovam para continuar o trabalho.

À Profa. Dra. Anielle Cristhine de Medeiros Takahashi, com quem muito aprendi desde a graduação e se tornou uma das principais responsáveis pelo meu interesse pela ciência.

Prof. Dr. Alberto Porta, da Università Degli Studi di Milano - Itália, pelas sugestões e colaborações durante a realização deste trabalho.

Aos docentes e amigos do NUPEF: Profa. Dra. Audrey Borghi-Silva, Profa. Dra. Ester Silva, Alessandra, Bruno, Camila Nogi, Camila Pantoni, Cristina, Daniela, Flávia, Katiany, Luciana, Mariana, Milena, Nayara, Renata Gonçalves, Renata Mendes, Renata Trimer, Richard, Rodrigo, Silvia, Soraia, Vivian, Viviane, pelos agradáveis momentos compartilhados.

À Profa. Dra. Rozangela Verlengia, pela colaboração nas extrações de DNA e análises de comprimento telomérico.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Calado e à Dra. Bárbara Santana-Lemos, por me receberem no Laboratório de Hematologia da FMUSP-Ribeirão Preto, oferecendo todo o suporte técnico para nossas análises de comprimento de telômeros.

Ao Prof. Pedro Ferreira Filho, pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao Dr. Adriano Del Vale e a Esmarilda L. Felipe Verdério (Liu), responsáveis pelo Unilab de São Carlos, onde foram realizados os exames bioquímicos sanguíneos dos participantes de nossa pesquisa.

À Dra. Isabela A. Verzola Aniceto e ao Prof. Dr. Sérgio Lopes Brasileiro, cardiologistas da Unidade Saúde Escola da UFSCar, por auxiliarem nas avaliações clínicas de nossos voluntários.

À Profa. Dra. Stela Márcia Mattiello, por nos receber em seu laboratório para as análises de marcadores inflamatórios.

Ao Prof. Dr. Thiago Luiz Russo e ao Dr. Fernando Augusto Vasilceac (Zé) pelos “ensinamentos de bancada”.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos.

Aos professores membros da banca examinadora desta tese, pelas importantes sugestões e contribuições.

Ao órgão de fomento FAPESP, pelo suporte financeiro (bolsa e auxílio pesquisa) que viabilizou a realização deste trabalho.

Ao órgão de fomento CAPES, pelo suporte financeiro concedido durante os três meses iniciais de desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os participantes de nossa pesquisa, cujas colaborações foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O envelhecimento exerce influência sobre vários sistemas do corpo humano, dentre eles: sistema nervoso autonômico, que pode ser avaliado pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC); estruturas celulares, como o comprimento de telômeros; e mecanismos reguladores de processos inflamatórios, que podem ser avaliados por marcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa ultra sensível (PCRus). A análise conjunta dessas variáveis permitiria o estudo do processo de envelhecimento de forma multidimensional. Adicionalmente, são controversos os efeitos da terapia de reposição hormonal (TRH) sobre a VFC. Assim, foi realizado o *estudo I*, o qual teve por objetivo investigar os efeitos da TRH na VFC em mulheres pós-menopáusicas saudáveis. Foram avaliados dois grupos: grupo 1 (G1): 20 mulheres que não faziam uso de TRH ($60 \pm 5,89$ anos) e grupo 2 (G2): 20 mulheres submetidas à TRH ($59 \pm 5,70$ anos). O eletrocardiograma foi registrado na posição supina por 10 min. A análise espectral incluiu a baixa e a alta frequência em unidades absolutas (BF e AF) e normalizadas (BFun e AFun). A relação BF/AF também foi calculada. A análise simbólica (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%), e entropias de Shannon e condicional também foram calculadas. BF, BFun e a razão BF/AF foram maiores, enquanto AFun foi menor no G2 do que no G1. As correlações entre índices de complexidade e AFun foram significativos e positivos apenas no G1. Concluímos que mulheres submetidas à TRH apresentaram maior modulação cardíaca simpática e menor modulação cardíaca vagal em comparação às que não faziam a terapia. Além disso, a relação positiva esperada entre modulação cardíaca vagal e a complexidade da VFC foi encontrada apenas no grupo não submetido à TRH, indicando que a modulação vagal em mulheres sob a terapia não atinge um valor mínimo necessário para a associação se tornar aparente, sugerindo uma modulação autonômica cardíaca desfavorável, apesar da TRH. A partir dos achados do *estudo I*, optou-se por adotar, como critério de exclusão para o *estudo II*, o uso da terapia. Assim, o *estudo II* teve por objetivo analisar o efeito do envelhecimento sobre a VFC nas posições supina e ortostática, os níveis séricos da PCRus e o comprimento de telômeros leucocitários, além de verificar em qual faixa etária se acentuam as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento. Foram avaliados 110 voluntários, divididos em cinco grupos, de acordo com a idade: G21-30 anos, G31-40 anos, G41-50 anos, G51-60 anos e G61-70 anos. Amostras de sangue venoso foram coletadas para medidas de PCRus e comprimento de telômeros. Os sinais eletrocardiográficos foram registrados em repouso nas posições supina e ortostática (15 min em cada postura). A VFC foi avaliada por índices de baixa e alta frequências em unidades absolutas (BF e AF) e

normalizadas (BFun e AFun) da análise espectral; índices 0V%, 1V%, 2LV% e 2UV% da análise simbólica; entropia de Shannon; e índice de complexidade (IC) e IC normalizado (ICN) da entropia condicional. Os principais resultados foram: 1) redução de AF e 2UV% (modulação vagal) em G51-60, além de aumento de 0V% (modulação simpática) e diminuição de ICN (complexidade) em G61-70 na posição supina; 2) resposta menos eficiente à manobra de mudança postural de supino para ortostatismo com o avanço da idade; 3) aumento da PCRus em G51-60; 4) encurtamento do comprimento de telômeros em G61-70; 5) na posição supina, os índices da VFC apresentaram relação mais alta com o componente principal de maior relevância, proveniente da análise multivariada por componentes principais, em comparação à PCRus e ao comprimento de telômeros. Considerando-se que os índices da VFC na posição supina apresentaram uma associação mais forte com o envelhecimento, podemos concluir que a diminuição da modulação cardíaca vagal possa ter contribuído para o aumento dos níveis séricos de PCRus (apesar dos valores estarem dentro de faixa de normalidade), na faixa etária de 51 a 60 anos, uma vez que este efeito é descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. A diminuição da modulação cardíaca vagal e o aumento da PCRus podem ter contribuído para o encurtamento de telômeros, identificado na década seguinte, de 61 a 70 anos. Dessa maneira, torna-se importante a proposição de ações preventivas em faixas etárias anteriores ao início das alterações provocadas pelo envelhecimento, especialmente na década de 41 a 50 anos, na tentativa de atenuar os efeitos naturais da senescência.

Palavras-chave: Variabilidade da frequência cardíaca; Sistema nervoso autônomo; Análise simbólica; Análise espectral; Envelhecimento; Proteína C-reativa, Comprimento de telômeros; Terapia de reposição hormonal.

ABSTRACT

The aging process affects many systems of the human body, including: autonomic nervous system, which can be assessed by heart rate variability (HRV); cellular structures, such as telomere length; and mechanisms of regulation of the inflammatory process, which can be evaluated by inflammatory markers such as high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP). The combined analysis of these variables enables the study of the aging process in a multidimensional way. Additionally, the effects of hormone replacement therapy (HRT) on HRV are contradictory. In this way, we conducted the *study I*, which aimed to investigate the effects of HRT on HRV in healthy postmenopausal women. Two groups were evaluated: Group 1 (G1): 20 women who did not use HRT (60 ± 5.89 years) and group 2 (G2): 20 women undergoing HRT (59 ± 5.70 years). The electrocardiogram was recorded in supine position for 10 min. Spectral analysis included low and high frequency in absolute (LF and HF) and normalized (LFnu and HFnu) units. LF/HF ratio was also calculated. Symbolic analysis (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%), Shannon and conditional entropy were calculated. LF, LFnu and LF/HF ratio were higher, whereas HFnu was lower in G2 than in G1. Correlations between complexity indices and HFnu were significant and positive only in G1. We conclude that women undergoing HRT had higher cardiac sympathetic modulation and reduced cardiac vagal modulation compared to women not using HRT. Moreover, the expected positive relationship between cardiac vagal modulation and HRV complexity was found only in the group not undergoing HRT, indicating that vagal modulation in women under therapy drop below a minimum value necessary to the association to become apparent, suggesting an unfavorable cardiac autonomic modulation in spite of HRT. Considering the findings of the *study I*, we chose to adopt the use of the therapy as an exclusion criterion for the *study II*. Thus, the *study II* aimed to examine the aging effect on heart rate variability in supine and standing, on serum hsCRP and leukocyte telomere length, as well as to verify the age at which the changes caused by aging process are accentuated. One hundred and ten volunteers were divided into five groups according to age: G21-30 years, G31-40 years, G41-50 years, G51-60 years, and G61-70 years. Venous blood samples were collected for measurements of serum hsCRP and telomere length. ECG signals were recorded in rest supine and standing (15 min in each posture). HRV was assessed by spectral analysis in low and high frequencies in absolute (LF e HF) and normalized (LFnu e HFnu) units; symbolic analysis (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%); Shannon entropy; and complexity index (CI) and normalized CI (NCI) from conditional entropy. The main results were: 1) HF and 2UV% reduction (vagal modulation) in

G51-60, and 0V% increase (sympathetic modulation) and NCI reduction (complexity) in G61-70, in supine; 2) less efficient response to postural change from supine to standing with advancing age; 3) hsCRP increase in G51-60; 4) telomere shortening in G61-70; 5) in supine, HRV indices showed stronger relationship with the principal component of most relevance from the multivariate principal component analysis, compared to hsCRP and telomere length. Considering that HRV indices in supine had a stronger association with the aging process, we can conclude that the decrease in cardiac vagal modulation may have influenced the increase in serum hsCRP (although normal values), in G51-60, since this effect is described by the cholinergic anti-inflammatory pathway. Decreased cardiac vagal modulation and increased hsCRP may have contributed to the telomere shortening identified in the following decade (G61-70). In this way, we must consider the importance of preventive actions prior to the onset of aging effects, particularly in the 41-50 age range, in an attempt to attenuate the natural effects of senescence.

Keywords: Heart rate variability; Autonomic nervous system; Symbolic analysis; Spectral analysis; Aging; C-reactive protein; Telomere length; Hormone replacement therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Distribuição percentual da população residente no Brasil, por sexo, segundo os grupos de idade - 2002/2012.	19
Figura 2. Distribuição percentual da população projetada, por grupos de idade - Brasil - 2020/2060.	20
Figura 3. Ilustração da tela de captação dos sinais eletrocardiográficos e dos movimentos respiratórios de uma das participantes do estudo.	33
Figura 4. Análise Simbólica.	35
Figura 5. Fluxo de inclusão, exclusão e perda dos indivíduos elegíveis para o estudo.	49
Figura 6. Ilustração do procedimento experimental de coleta dos sinais eletrocardiográficos e movimentos respiratórios, nas posições supina e ortostática.	52
Figura 7. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca em resposta à mudança postural (Δ Ortostatismo-Supino) dos grupos estudados.	62
Figura 8. Proteína C-reativa ultra sensível (PCRus) das faixas etárias estudadas.	63
Figura 9. Média relativa do comprimento de telômero (T/S) das faixas etárias estudadas.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Idade, características antropométricas e clínicas de cada grupo estudado.....	37
Tabela 2. Variabilidade da frequência cardíaca, determinada pelas análises espectral e simbólica, bem como entropias de Shannon e condicional.....	38
Tabela 3. Correlações entre índice espectral e índices de complexidade.	39
Tabela 4. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca na posição supina dos grupos estudados.	60
Tabela 5. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca na posição ortostática dos grupos estudados.	61
Tabela 6. Correlação de <i>Pearson</i> entre os componentes principais e os índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca nas posições supina e ortostática, proteína C-reativa ultra sensível e média relativa de comprimento de telômeros.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF: banda de alta frequência em unidades absolutas
AFun: banda de alta frequência em unidades normalizadas
BF: banda de baixa frequência em unidades absolutas
BFun: banda de baixa frequência em unidades normalizadas
BF/AF: razão entre banda de baixa frequência e banda de alta frequência
DP: desvio padrão
EC: entropia condicional
ECC: entropia condicional corrigida
ECG: eletrocardiograma
ES: entropia de Shannon
FC: frequência cardíaca
FSH: hormônio folículo estimulante
HDL: lipídio de alta densidade
Hz: Hertz
IC: índice de complexidade
ICN: índice de complexidade normalizado
IL-6: interleucina 6
IMC: índice de massa corporal
iRR: intervalo entre duas ondas R consecutivas do eletrocardiograma
LDL: lipídio de baixa densidade
MBF: banda de muito baixa frequência
MET: equivalente metabólico
PA: pressão arterial
PAD: pressão arterial diastólica
PAS: pressão arterial sistólica
PCR: proteína C-reativa
PCRus: proteína C-reativa ultra sensível
qPCR: reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa
SNA: sistema nervoso autonômico
TNF: fator de necrose tumoral
TRH: terapia de reposição hormonal
un: unidades normalizadas

VFC: variabilidade da frequência cardíaca

VO₂: consumo de oxigênio

0V: padrão sem variação

1V: padrão com uma variação

2LV: padrão com 2 variações iguais

2UV: padrão com 2 variações diferentes

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	18
2. ESTUDO I.....	28
RESUMO.....	29
2.1. INTRODUÇÃO.....	30
2.2. MÉTODOS.....	31
2.3. RESULTADOS.....	36
2.4. DISCUSSÃO.....	39
2.5. CONCLUSÕES.....	43
3. ESTUDO II.....	44
RESUMO.....	45
3.1. INTRODUÇÃO.....	46
3.2. MÉTODOS.....	48
3.3. RESULTADOS.....	57
3.4. DISCUSSÃO.....	65
3.5. CONCLUSÕES.....	72
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS.....	73
5. ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO.....	76
REFERÊNCIAS.....	82
APÊNDICE A.....	91
APÊNDICE B.....	93
APÊNDICE C.....	96
ANEXO A.....	98

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Nos últimos anos, o aumento da população idosa no Brasil tornou-se significativo. Dados do IBGE (2013) mostraram que a distribuição populacional por idade segue apontando para a tendência de envelhecimento da estrutura etária no país. Desde 2002 tem sido observado o estreitamento da base da pirâmide populacional, sendo que a estrutura etária, avaliada em 2012, mostrou que este estreitamento da base da pirâmide está ainda mais acentuado, conforme representado na Figura 1 (IBGE, 2013). Ainda, segundo dados do IBGE (2013), a tendência de envelhecimento populacional fica ainda mais clara ao se observar a distribuição da população projetada por grupos de idade. De acordo com a projeção de população mais recente, a proporção de jovens diminui gradualmente, enquanto indivíduos idosos, de 60 anos ou mais, o aumento na participação relativa é acentuado, passando de 13,8%, em 2020, para 33,7%, em 2060, ou seja, um aumento de 20 pontos percentuais (Figura 2).

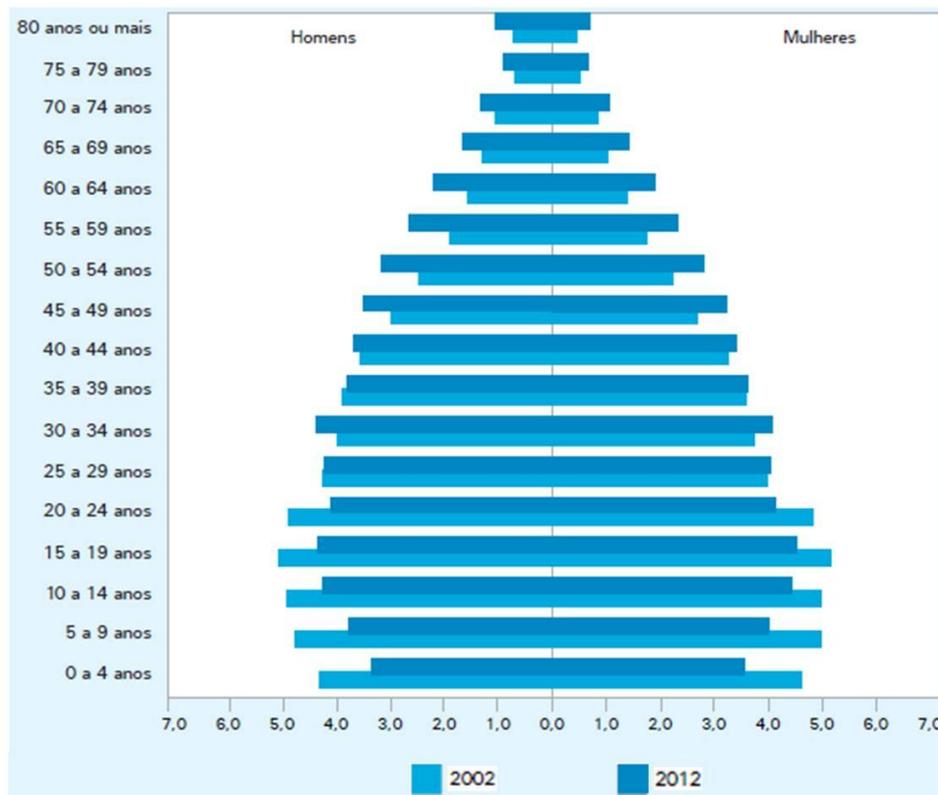


Figura 1. Distribuição percentual da população residente no Brasil, por sexo, segundo os grupos de idade - 2002/2012. Fonte: IBGE, Estudos e Pesquisas Informação Demográfica e Socioeconômica, n. 32, 2013.

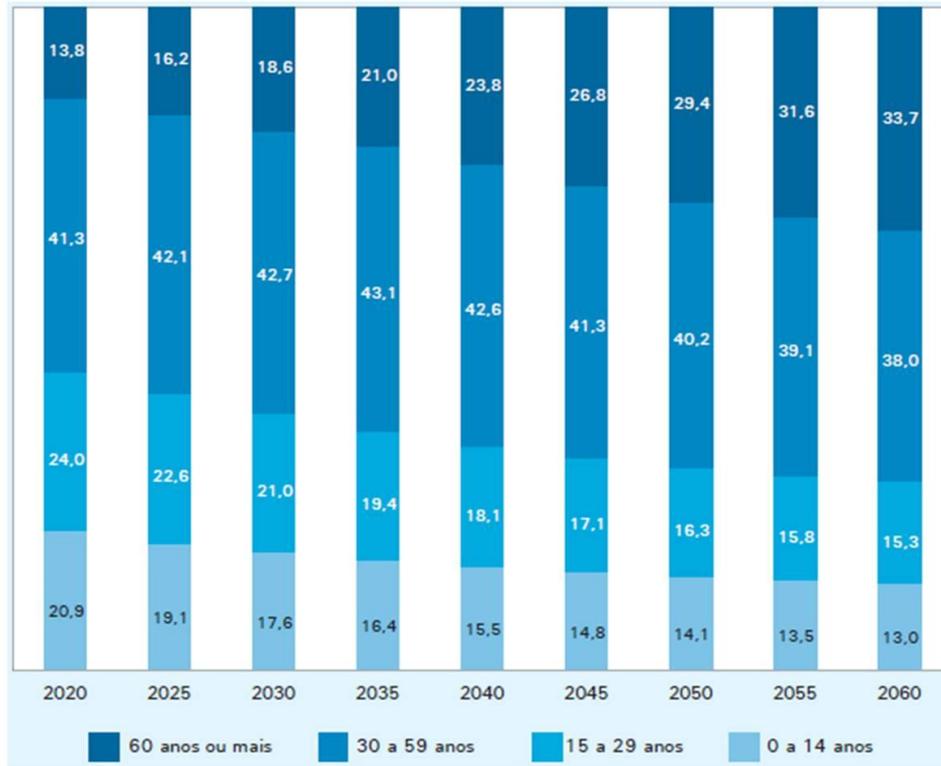


Figura 2. Distribuição percentual da população projetada, por grupos de idade - Brasil - 2020/2060. Fonte: IBGE, Estudos e Pesquisas Informação Demográfica e Socioeconômica, n. 32, 2013.

O desenvolvimento de novas tecnologias permitiu avanços na área da medicina, que foram capazes de eliminar e/ou reduzir parte dos fatores extrínsecos que levam a morte do ser humano (BUCKWALTER, 2000). Assim, estudos para o desenvolvimento de novos conhecimentos sobre diagnóstico, tratamento e, principalmente, prevenção de doenças para melhorar a qualidade de vida é de fundamental importância (KEEN, 2007; TONNER et al., 2003).

O processo de envelhecimento desencadeia uma série de alterações fisiológicas nos vários sistemas biológicos (cardiovascular, respiratório, neuroendócrino, imune, metabólico), que promovem a perda e/ou redução da homeostase frente a mecanismos estressores. Esse quadro se reflete em perda e/ou redução da interação dos subsistemas envolvidos, comprometendo as respostas decorrentes desses mecanismos (KAPLAN et al., 1991; LIPSITZ et al., 1992; PIKKUJAMSA et al. 1999; VARADHAN et al., 2009).

Com relação ao sistema cardiovascular, de acordo com Zaslavsky e Gus (2002), o envelhecimento tem como consequência o desenvolvimento de diversas alterações e/ou doenças relacionadas a este sistema. Com o avanço da idade, são observadas modificações

nos vasos sanguíneos (LAKATTA, 2008; LAKATTA e LEVY, 2003), com diminuição da luz vascular e disfunção endotelial (BORTOLOTTO et al., 1999), aumento da espessura e redução da complacência das paredes do ventrículo esquerdo (DAI et al., 2012; FLEG e STRAIT, 2012). Além disso, o processo de envelhecimento leva a alterações no sistema nervoso autônomo (SNA), caracterizadas pela diminuição da sensibilidade barorreflexa (BARANTKE et al., 2008; FAUVEL et al., 2007), bem como redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (CATAI et al., 2002; BARANTKE et al., 2008; LAKATTA e LEVY, 2003; MELO et al., 2005; PAGANI et al., 1988; SIMPSON e WICKS, 1988; TAKAHASHI et al., 2012).

A VFC, a qual representa as oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos, os chamados intervalos RR (iRR), é uma importante ferramenta de análise não invasiva da modulação do SNA sobre o coração (TASK FORCE, 1996). O sistema nervoso parassimpático atua por meio do nervo vago e de seu neurotransmissor acetilcolina, retardando o ritmo de descarga sinusal, conseqüentemente diminuindo a frequência cardíaca (FC). Por outro lado, o sistema nervoso simpático age através dos nervos cardioaceleradores liberando as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), que aceleram a despolarização do nódulo sinusal, aumentando o ritmo cardíaco e a contratilidade do miocárdio (MCARDLE et al., 1998).

Em relação a metodologias de análise da VFC, a mesma é amplamente avaliada por meio de técnicas lineares, como a análise espectral, na qual a série de iRR sofre um processamento matemático, resultando no chamado tacograma, que expressa a variação da FC e dos iRR e contém um sinal que oscila no tempo, o qual é processado por algoritmos matemáticos, sendo calculada a densidade espectral de potência (TASK FORCE, 1996). Em um trabalho pioneiro realizado por Akselrold et al. (1981) com cães acordados, foram identificados basicamente três bandas principais de densidade espectral. Ainda em estudos com indivíduos saudáveis envolvendo registros de longa duração foram identificados três bandas espectrais: (1) Componente de muito baixa frequência (MBF: entre 0 e 0,04 Hz), relacionado ao sistema renina-angiotensina-aldosterona, à termorregulação e ao tônus vasomotor periférico; (2) Componente de baixa frequência (BF: entre 0,04 e 0,15 Hz), decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático, sendo este último mais predominante, motivo pelo qual o componente BF é indicador da modulação simpática cardíaca; (3) Componente de alta frequência (AF: entre 0,15 e 0,4 Hz), correspondente à modulação respiratória e indicador da modulação vagal cardíaca (AKSELROD et al., 1981;

AKSELROD et al., 1985; LONGO et al., 1995; MALLIANI et al., 1991; POMERANZ et al., 1985; TASK FORCE et al., 1996).

Ainda, os componentes espectrais das bandas de baixa e alta frequências, considerados em análises da VFC de curta-duração, podem ser apresentados em unidades normalizadas (BFun e AFun), sendo que a normalização é realizada dividindo-se a potência de um dado componente espectral (BF ou AF) pela potência total menos a potência abaixo de 0,04 Hz, multiplicando-se a razão por 100 (MALLIANI et al., 1991; PAGANI et al., 1986). O índice BFun representa a modulação simpática cardíaca, enquanto AFun corresponde à modulação vagal cardíaca. Já o balanço simpato-vagal pode ser avaliado pela razão entre as bandas de baixa e alta frequências (razão BF/AF) (TASK FORCE 1996).

Dessa maneira, o grupo de pesquisa do Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular - Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) tem se dedicado ao estudo da informatização das respostas de sinais biológicos. Um software de captação e armazenamento dos iRR (SILVA et al., 1994) foi desenvolvido, o que permitiu investigações subsequentes da modulação autonômica cardíaca em diversas condições, tais como: em repouso (CATAI et al., 2002; RIBEIRO et al., 2001); em diferentes posturas corporais, durante e após a aplicação de estímulos como exercício físico dinâmico e manobras provocatórias específicas (HIGA et al., 2007; MARÃES et al., 2004; MARÃES et al., 2005; SANTOS et al., 2005). Adicionalmente, também foram realizados estudos com pacientes com insuficiência cardíaca (REIS et al., 2010); com pacientes no período de pós-infarto do miocárdio (SANTOS-HISS et al., 2011); com pacientes após revascularização do miocárdio (MENDES et al., 2010); com pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (BORGHI-SILVA et al., 2008; BORGHI-SILVA et al., 2009; REIS et al., 2010); no processo de envelhecimento (MELO et al., 2005; MELO et al., 2008; NEVES et al., 2007; RIBEIRO et al., 2001; TAKAHASHI et al., 2009); e comparação entre gêneros (PERSEGUINI et al., 2011).

No entanto, embora a modulação autonômica cardíaca seja mais comumente analisada por metodologias lineares, têm sido relatadas importantes limitações relacionadas a estas técnicas. Porta et al. (2007a) relataram que a análise espectral é estritamente baseada na definição de bandas de frequência, cujos limites inferiores e superiores são fixados convencionalmente. Além disso, os índices espectrais são favoráveis apenas em condições caracterizadas por mudanças recíprocas nas modulações simpática e parassimpática. De fato, os componentes de BF e AF, expressos em unidades normalizadas (BFun e AFun), foram

propostos para a hipótese de que um aumento da modulação cardíaca simpática corresponda à uma diminuição da modulação cardíaca vagal.

Por este motivo, o interesse por métodos não lineares tem aumentado, uma vez que índices não lineares podem fornecer informações mais estáveis e reprodutíveis e também identificar anormalidades e alterações não aparentes (HUIKURI et al., 2003; LIPSITZ et al., 1992; MÄKIKALLIO et al., 2002). Além disso, os métodos não lineares são mais adequados para extrair informações relevantes relacionadas à complexidade (HUIKURI et al., 2000; HUIKURI et al., 2003). Dessa maneira, metodologias não lineares se diferenciam dos métodos tradicionais porque consideram principalmente propriedades qualitativas da série temporal de FC. Ainda, os mecanismos que envolvem a regulação cardiovascular são interligados entre si de modo não linear e, teoricamente, técnicas de análise não lineares poderiam trazer contribuições adicionais (HUIKURI et al., 1999; HUIKURI et al., 2003; JOKINEN et al., 2003; MÄKIKALLIO et al., 2001; MÄKIKALLIO et al., 2002).

Além disso, de acordo com Voss et al. (2009), um único parâmetro não é capaz de descrever suficientemente sistemas fisiológicos complexos, como o controle da FC. Por essa razão, o uso de técnicas multivariadas deve ser considerado, sendo que parâmetros não lineares em combinação a parâmetros lineares padrões tornam a análise da VFC mais efetiva.

Assim, na tentativa de suprir as deficiências das técnicas lineares, Porta et al. (2001) propuseram uma nova ferramenta de análise não linear para a avaliação da VFC baseada na análise da dinâmica simbólica, a qual apresenta potencial para detectar modificações não-recíprocas nas modulações simpática e parassimpática ou mudanças recíprocas com diferentes magnitudes, visto que a soma de todos os parâmetros simbólicos é igual a 100% ($0V\% + 1V\% + 2LV\% + 2UV\% = 100\%$). Para a realização da análise simbólica, a série de iRR previamente selecionada é distribuída em 6 níveis (0 a 5) e transformada em uma sequência de símbolos, a partir dos quais são construídos os padrões (sequências de 3 símbolos). Tais padrões são agrupados em 4 famílias, considerando a quantidade e o tipo de variações existentes entre os símbolos subsequentes: 1) 0V: padrão sem variação [3 símbolos iguais, por exemplo, (2,2,2) ou (4,4,4)], 2) 1V: padrão com uma variação [2 símbolos subsequentes iguais e outro diferente, por exemplo, (4,2,2) ou (4,4,3)], 3) 2LV: padrão com 2 variações iguais [os 3 símbolos formam uma rampa ascendente ou descendente, por exemplo, (5,4,2) ou (1,3,4)], e 4) 2UV: padrão com 2 variações diferentes [os 3 símbolos formam um pico ou um vale, por exemplo, (4,1,2) ou (3,5,3)]. Ainda, estudos com bloqueios farmacológicos (GUZZETTI et al., 2005) ou testes autonômicos específicos (PORTA et al., 2001; PORTA et al., 2007a) mostraram que o índice simbólico 0V% está relacionado à modulação simpática,

enquanto o índice 1V% represente a presença simultânea das modulações vagal e simpática, o índice 2LV% corresponde predominantemente à modulação vagal e 2UV% refere-se à modulação vagal.

Assim, a análise simbólica foi introduzida na rotina de análises desenvolvida em nosso laboratório desde 2009, em parceria com o Prof. Dr. Alberto Porta, do *Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Istituto Ortopedico Galeazzi, Università degli Studi di Milano/Itália*. Um estudo realizado por Perseguini et al. (2011) avaliou o efeito do gênero e da mudança postural de supino para ortostatismo na modulação autonômica cardíaca de idosos de ambos os gêneros, por meio da análise simbólica e da análise espectral. Foi observado que as mulheres, comparativamente aos homens, apresentaram VFC de repouso caracterizada por menor modulação simpática, evidenciada por menores BFun e razão BF/AF, além de maior modulação vagal, evidenciada por maior AFun. Com relação à mudança postural, as mulheres apresentaram uma resposta mais apropriada à manobra, demonstrada pela análise espectral da VFC, com aumento da modulação simpática (aumento de BFun e razão BF/AF) e redução da modulação parassimpática (diminuição de AFun). Ainda, a análise simbólica mostrou que as mulheres apresentaram uma diminuição do índice 2LV% em resposta à manobra, o qual segundo Porta et al. (2001) e Porta et al. (2007a) está predominantemente relacionado aos componentes de ondas rápidas, que correspondem à modulação parassimpática. Assim, com o estudo de Perseguini et al. (2011), observamos que, na faixa etária estudada, as mulheres apresentaram uma resposta mais apropriada à mudança postural, sugerindo que a modulação autonômica cardíaca esteja melhor preservada em comparação aos homens.

Em outro recente trabalho (TAKAHASHI et al., 2012) também desenvolvido em nosso laboratório, foram aplicados os mesmos algoritmos não lineares para o estudo da VFC, com intuito de avaliar a capacidade destes em detectar alterações no controle autonômico da FC com o envelhecimento. Este trabalho comparou duas faixas etárias (jovens e idosos) e como resultado observou-se que o grupo idoso apesar de apresentar distribuição de padrões similares aos jovens (valores de entropia de Shannon semelhantes) estes padrões foram mais repetitivos e previsíveis (valores de entropia condicional reduzidos); além disso, a análise de tipos de padrões revelou predominância da modulação simpática no grupo de idosos (predominância de padrões sem variações na análise simbólica). Ainda, a análise de correlação entre os índices da análise simbólica e os índices de complexidade da entropia condicional mostrou moderada a forte correlação para o grupo de idosos e fraca a moderada para o grupo jovem, indicando que as análises aplicadas podem ser sensíveis à questão da idade.

Assim, considerando os dois trabalhos prévios desenvolvidos em nosso laboratório, envolvendo técnicas de análise não linear da VFC (PERSEGUINI et al., 2011; TAKAHASHI et al., 2012), observamos, como de fundamental importância, a realização de um estudo que analise a modulação autonômica cardíaca, por meio de técnicas lineares e não lineares, durante o processo natural de envelhecimento (processo de senescência), avaliando indivíduos saudáveis de diferentes faixas etárias, em repouso e em resposta à mudança postural de supino para ortostatismo. Os resultados deste trabalho possibilitariam observar em qual faixa etária as alterações no controle autonômico cardíaco se acentuam e, portanto, qual fase da vida deve ser a de maior atenção para práticas de prevenção e promoção de saúde, uma vez que a literatura descreve amplamente a relação entre alterações no balanço simpátovagal e doenças cardiovasculares (BIGGER et al., 1992; DE ANGELIS et al., 2004; HUIKURI et al., 2000).

Considerando-se que, além do controle autonômico cardíaco, o processo de envelhecimento tem efeitos em outras funções do corpo humano, como o processo inflamatório e o envelhecimento celular, e que estes fatores poderiam estar relacionados à modulação autonômica cardíaca, despertou-se a motivação no estudo do envelhecimento de uma forma multidimensional, uma vez que se trata de um processo bastante complexo.

Dessa maneira, estudos mostram que a presença de marcadores inflamatórios circulantes, como a proteína C-reativa (PCR), exerce influência sobre a VFC. Por isso, a PCR tem sido utilizada como prognóstico e, também, na estratificação de risco de pacientes com doença cardiovascular (MORROW et al., 1998; PEARSON et al., 2003). Ainda, estudos mostram que o aumento da dosagem de PCR leva à redução da VFC (HAENSEL et al., 2008; SLOAN et al., 2007), sendo que a dominância da modulação parassimpática sobre a modulação simpática está associada a um menor nível sérico desta proteína inflamatória (SINGH et al., 2009). Existem inferências de que o nervo vago possa modular a resposta imunológica e, conseqüentemente, ter uma ação anti-inflamatória sistêmica, sendo que a relação entre os índices da VFC e marcadores inflamatórios sanguíneos tem sido relatada por vários pesquisadores (HAENSEL et al., 2008; MADSEN et al., 2007; NOLAN et al., 2007; ULLOA, 2005).

No entanto, a maioria dos estudos, envolvendo a presença de processo inflamatório e a modulação autonômica cardíaca, avaliou populações com alguma disfunção pré-existente (SLOAN et al., 2007), sendo que ainda existem diferentes explicações para a associação entre estes dois fatores, ou seja, uma reduzida modulação cardíaca vagal levando ao aumento de marcadores inflamatórios, ou uma elevação da produção de proteínas inflamatórias causando a diminuição da modulação cardíaca vagal. Portanto, segundo a revisão de Haensel et al.

(2008), o estudo da relação entre os marcadores inflamatórios, como a PCR, e os índices não lineares de análise da VFC se faz importante para o melhor entendimento da interação entre o processo inflamatório e a modulação do sistema nervoso autonômico sobre o coração.

Ainda, Barceló et al. (2010) relataram que o comprimento dos telômeros é influenciado pelo processo de envelhecimento. Telômeros são estruturas de DNA localizadas no final dos cromossomos eucarióticos, sendo reguladores da duração da vida celular e da integridade do cromossomo (WONG e COLLINS, 2003). Segundo Harley et al. (1990), o comprimento dos telômeros diminui progressivamente a cada divisão da célula, devido às replicações ineficientes, sendo, por essa razão, um indicador do envelhecimento celular. Estudos mostram que o estresse oxidativo e processos inflamatórios aceleram a taxa de desgaste telomérica, sendo que o encurtamento dos telômeros também está relacionado ao aparecimento de doenças crônico-degenerativas associadas ao envelhecimento, como diabetes, hipertensão arterial, aterosclerose e obesidade (EPEL et al., 2004; FUSTER e ANDRÉS, 2006). Por essa razão, as relações entre comprimento de telômeros, processo inflamatório (detectado pela PCR ultra sensível - PCRus) e a modulação autonômica cardíaca podem trazer informações adicionais sobre as alterações causadas pelo processo de envelhecimento, uma vez que estes fatores estão associados às doenças crônico-degenerativas.

Ressalta-se que, durante o planejamento do estudo que avaliaria a relação entre modulação autonômica cardíaca, perfil inflamatório e comprimento de telômeros durante o processo de senescência de homens e mulheres saudáveis, um importante questionamento foi levantado. O uso de medicamentos para terapia de reposição hormonal (TRH), bastante utilizada por mulheres no período pós-menopausa, interferiria nas variáveis estudadas relacionadas ao controle autonômico da FC?

Afinal, estudos mostram que a TRH pode influenciar a modulação autonômica cardíaca. Há relatos de que mulheres submetidas à terapia apresentam maior VFC, com maior modulação vagal (GÖKÇE et al., 2005; LIU et al., 2003) e menor modulação simpática (LIU et al., 2003; ROSANO et al., 1997), quando comparadas as mulheres que não utilizam a TRH. Ainda, em outro estudo realizado por Neves et al. (2007), foram avaliadas mulheres jovens e no período pós-menopausa, com e sem o uso de terapia de reposição hormonal (TRH). Também foi observada redução da VFC com o envelhecimento, sendo que os autores sugerem que a TRH parece atenuar o processo de diminuição da VFC com o aumento da idade, promovendo uma redução da modulação simpática sobre o coração e contribuindo para o efeito cardioprotetor do hormônio estrógeno.

No entanto, os achados a respeito dos efeitos da terapia sobre o controle autonômico cardíaco ainda são contraditórios, sendo que estudos avaliando a VFC por meio de técnicas não lineares são escassos. Dessa maneira, optamos por realizar um trabalho preliminar, avaliando os efeitos da TRH sobre a modulação autonômica cardíaca, o qual se tornou o primeiro estudo desta tese de Doutorado e foi publicado no periódico *Clinical Autonomic Research*, intitulado: “*Effect of hormone replacement therapy on cardiac autonomic modulation*”. Este trabalho foi capaz de embasar nossa decisão em não incluir mulheres pós-menopáusicas em uso da terapia em nosso próximo estudo que avaliaria a relação entre VFC, processo inflamatório e comprimento de telômeros durante o processo natural de envelhecimento.

Sendo assim, observamos, em nosso primeiro estudo, que as mulheres que não utilizavam a TRH apresentaram controle autonômico cardíaco mais favorável, com maior modulação cardíaca vagal e menor modulação cardíaca simpática, em comparação às mulheres que usavam a terapia. Ainda, a relação positiva esperada entre modulação cardíaca vagal e a complexidade da VFC foi encontrada apenas no grupo de mulheres não usuárias da TRH, indicando que esta modulação não atingiu um valor mínimo necessário para a associação se tornar aparente em mulheres sob a terapia. Estes achados mostraram que a TRH não foi vantajosa para a modulação autonômica cardíaca nos grupos avaliados. Por essa razão, optamos por adotar o uso de qualquer tipo de TRH como critério de exclusão para a seleção das voluntárias que participariam do segundo estudo desta tese de Doutorado.

Dando prosseguimento, realizamos o trabalho inicialmente proposto, o qual está apresentado como o segundo estudo desta tese e intitula-se: “Modulação autonômica cardíaca, proteína C-reativa e comprimento de telômeros: nova perspectiva relacionada ao processo de envelhecimento”. Este teve como objetivo avaliar os efeitos do envelhecimento sobre a modulação autonômica cardíaca (avaliada por técnicas lineares e não lineares da VFC), o perfil inflamatório (avaliado pela PCRus) e o envelhecimento celular (avaliado pelo comprimento de telômeros), de homens e mulheres saudáveis em diferentes faixas etárias, além de identificar em qual faixa etária se acentuam as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento, bem como identificar a variável a sofrer primeiramente os efeitos da idade.

Os estudos desenvolvidos são apresentados a seguir, em formato de artigo científico e/ou manuscrito, traduzidos para a língua portuguesa. Os textos originais, em língua inglesa, encontram-se nos Apêndices A (Estudo I) e B (Estudo II).

2. ESTUDO I

(Versão em Português com inclusão de ilustrações)

Natália M. Persequini, Anielle C.M. Takahashi, Juliana C. Milan, Patrícia R. Santos, Valéria F.C. Neves, Audrey Borghi-Silva, Ester da Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Efeitos da terapia de reposição hormonal sobre a modulação autonômica cardíaca. Publicado no periódico *Clinical Autonomic Research*, v. 24, p. 63-70, 2014.

RESUMO

O objetivo do estudo foi investigar os efeitos da terapia de reposição hormonal (TRH) na variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em mulheres pós-menopáusicas saudáveis. Foram avaliados dois grupos: grupo 1 (G1): 20 mulheres que não faziam uso de TRH ($60 \pm 5,89$ anos) e grupo 2 (G2): 20 mulheres submetidas à TRH ($59 \pm 5,70$ anos). Os tipos de hormônios envolvidos eram o estrógeno equino conjugado com ou sem medroxiprogesterona, o hormônio estrógeno sintético, o estradiol associado ao acetato de noretisterona ou isoflavonóides. O eletrocardiograma foi registrado na posição supina por 10 min. A análise espectral incluiu a baixa e a alta frequência em unidades absolutas (BF e AF) e normalizadas (BFun e AFun), que são predominantemente indicadores da modulação cardíaca simpática e da modulação cardíaca vagal, respectivamente. A relação BF/AF também foi calculada. A análise simbólica envolveu os seguintes índices: 0V% (indicador da modulação cardíaca simpática), 1V% (indicador das modulações cardíacas simpática e vagal), 2LV% (predominantemente indicador da modulação cardíaca vagal) e 2UV% (indicador da modulação cardíaca vagal). As entropias de Shannon e condicional também foram calculadas. A análise espectral demonstrou que a TRH afeta a VFC. BF, BFun e a razão BF/AF foram maiores (mostrando maior modulação cardíaca simpática), enquanto AFun foi menor (representando diminuição da modulação cardíaca vagal) no G2 do que no G1. As correlações entre índices de complexidade e AFun foram significativos e positivos apenas no G1. Concluímos que mulheres submetidas à TRH apresentaram maior modulação cardíaca simpática e menor modulação cardíaca vagal em comparação às que não faziam a terapia. Além disso, a relação positiva esperada entre modulação cardíaca vagal e a complexidade da VFC foi encontrada apenas no grupo não submetido à TRH, indicando assim, que a modulação vagal em mulheres sob a terapia não atinge um valor mínimo necessário para a associação se tornar aparente, sugerindo uma modulação autonômica cardíaca desfavorável, apesar da TRH.

Palavras-chave: Variabilidade da frequência cardíaca, Análise simbólica, Entropia condicional, Análise espectral, Terapia de reposição hormonal.

2.1. INTRODUÇÃO

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma importante ferramenta para a análise não invasiva da função autonômica cardíaca, a qual se refere às oscilações nos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos, conhecidos como intervalos RR (iRR) (TASK FORCE, 1996). A VFC tem sido amplamente utilizada como um fator preditor, sendo que sua redução está associada a maiores taxas de morbidade e mortalidade cardiovascular (BIGGER et al., 1992).

A VFC é comumente analisada por meio de modelos lineares, como a análise espectral. No entanto, o interesse por métodos não lineares tem aumentado nos últimos anos, uma vez que os mecanismos que envolvem a regulação cardiovascular estão interligados de uma maneira não linear, sendo que técnicas não lineares poderiam fornecer informações adicionais. A análise não linear difere da tradicional, pois considera propriedades qualitativas de séries temporais da frequência cardíaca (FC) (HUIKURI et al., 1999; HUIKURI et al., 2003; JOKINEN et al., 2003; MAKIKALLIO et al., 2001; MAKIKALLIO et al., 2002). Por esta razão, Porta et al. (2001) desenvolveram uma metodologia não linear, a análise simbólica, aplicada em coletas de iRR de curto período, e que tem sido eficaz para avaliar as modulações simpática e vagal da FC (GUZZETTI et al., 2005; PORTA et al., 2007a).

A terapia de reposição hormonal (TRH) pode influenciar a modulação autonômica cardíaca. Há relatos de que mulheres submetidas à TRH apresentam maior VFC, com maior modulação vagal (GÖKÇE et al., 2005; LIU et al., 2003) e menor modulação simpática (LIU et al., 2003; ROSANO et al., 1997), quando comparadas a mulheres que não utilizam a terapia. No entanto, Neves et al. (2007) não encontraram diferenças na VFC na posição supina, entre mulheres de meia-idade em uso ou não de TRH. Por outro lado, esses mesmos autores observaram que, na posição sentada, mulheres submetidas à terapia apresentaram maior modulação vagal e menor modulação simpática em comparação àquelas que não utilizavam a TRH. Além disso, foi observado que o grupo sem TRH apresentou menor modulação vagal e maior modulação simpática em relação às mulheres jovens (NEVES et al., 2007).

Adicionalmente, diminuição da pressão arterial (PA) (DE MEERSMAN et al., 1998; VONGPATANASIN et al., 2001), diminuição da FC de repouso (VONGPATANASIN et al., 2001) e aumento da sensibilidade barorreflexa (DE MEERSMAN et al., 1998; HUIKURI et al., 1996) tem sido associados à TRH. Estudos têm mostrado que a TRH pode afetar o

metabolismo de lipídios e lipoproteínas (ROSS et al., 1989), além da formação de placas ateroscleróticas (ADAMS et al., 1990).

No entanto, nenhum estudo comparou a modulação autonômica cardíaca de mulheres submetidas e não submetidas à TRH por meio de métodos não lineares, tais como análise da dinâmica simbólica e da complexidade da VFC. A hipótese do presente estudo foi de que mulheres submetidas à TRH apresentem maior modulação autonômica cardíaca, com maior modulação vagal e menor modulação simpática. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da TRH sobre a VFC, por meio de métodos lineares e não lineares.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Sujeitos

Foram selecionadas, para participarem do presente estudo, 40 mulheres saudáveis com idades entre 49 e 70 anos. As voluntárias foram divididas em dois grupos, de acordo com o uso ou não da terapia: grupo 1 (G1) incluiu 20 mulheres que não utilizavam TRH ($60 \pm 5,89$ anos), enquanto grupo 2 (G2) incluiu 20 mulheres submetidas à TRH ($59 \pm 5,70$ anos). Os tipos de hormônios, utilizados pelas voluntárias do G2, incluíam estrógeno equino conjugado (0,625 mg) (7 mulheres), estrógeno equino conjugado (0,625 mg) associado a medroxiprogesterona (4 mulheres), isoflavonóides (60 mg) (4 mulheres), estrógeno sintético (tibolona - 2,5 mg) (3 mulheres) e estradiol (2 mg) associado ao acetato de noretisterona (1 mg) (2 mulheres). As participantes faziam uso da TRH com o intuito de reduzir os sintomas da menopausa, como ondas de calor, ondas de frio, irritabilidade, alterações de humor e depressão.

Todas as participantes foram consideradas saudáveis, com base em exames clínicos e físicos, exames laboratoriais, além de eletrocardiograma (ECG) completo e teste de esforço máximo conduzidos por um médico cardiologista. Todas as participantes foram clinicamente diagnosticadas na pós-menopausa, caracterizada por amenorreia (ausência de menstruação) por pelo menos 1 ano. Nenhum dos indivíduos apresentou alterações nos sistemas cardiovascular ou respiratório. Os resultados do ECG foram negativos para isquemia do miocárdio e arritmia, tanto em repouso quanto durante o teste de esforço máximo, para todas as participantes. Foram excluídos do estudo indivíduos fumantes, alcoólatras, diabéticos, hipertensos, usuários de drogas ilícitas ou de medicamentos que pudessem interferir no sistema cardiorrespiratório, bem como indivíduos com doenças neurológicas, cardiovasculares ou doenças respiratórias.

2.2.2. Aspectos Éticos

Todas as participantes foram informadas sobre os procedimentos não invasivos que seriam realizados durante o estudo. Depois de concordarem em participar do estudo, todas assinaram um formulário de consentimento livre e esclarecido. O presente estudo seguiu as diretrizes da Declaração de Helsinki e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos, com o protocolo número 174/2011 (Anexo A).

2.2.3. Procedimentos Experimentais

Todas as participantes foram avaliadas no período da manhã, considerando-se as influências circadianas. Os experimentos foram realizados em sala climatizada (21 a 24°C), com umidade relativa do ar entre 40 e 60%. As participantes foram instruídas a evitarem bebidas alcoólicas e cafeinadas, bem como qualquer exercício extenuante no dia anterior ao procedimento experimental; além de realizarem uma refeição leve, pelo menos 2 horas antes do teste. No dia do experimento, anteriormente ao início do procedimento, as participantes foram entrevistadas e examinadas para verificar se apresentavam boas condições de saúde, se tiveram boa noite de sono, bem como se as condições basais (FC e PA) estavam dentro da normalidade. Antes do experimento, foi feita uma familiarização das voluntárias com os equipamentos e o procedimento experimental, a fim de reduzir a ansiedade.

2.2.4. Protocolo Experimental

As participantes permaneceram em repouso por 10 minutos na posição supina, para estabilização dos parâmetros cardiovasculares. Após isso, o ECG foi registado (derivação MC5) durante 10 minutos, usando-se uma interface entre um bioamplificador para sinais eletrocardiográficos (Bio Amp PowerLab[®], ADInstruments, Austrália) e um sistema para aquisição de sinais biológicos (PowerLab[®] 8/35, ADInstruments, Austrália). Durante a coleta do ECG, os movimentos respiratórios foram simultaneamente gravados, por meio de uma cinta respiratória (Marazza, Monza, Itália) fixada no tórax. Todos os sinais foram amostrados em uma frequência de 400 Hz. As participantes foram instruídas a respirarem espontaneamente ao longo de todo o procedimento experimental. A Figura 3 representa a ilustração da tela de captação do ECG (iRR) e dos movimentos respiratórios, por meio do *software LabChart 7 Pro*, versão 7.2.1 (ADInstruments, Austrália). No início do protocolo, a PA de todas as participantes foi verificada por meio do método auscultatório.

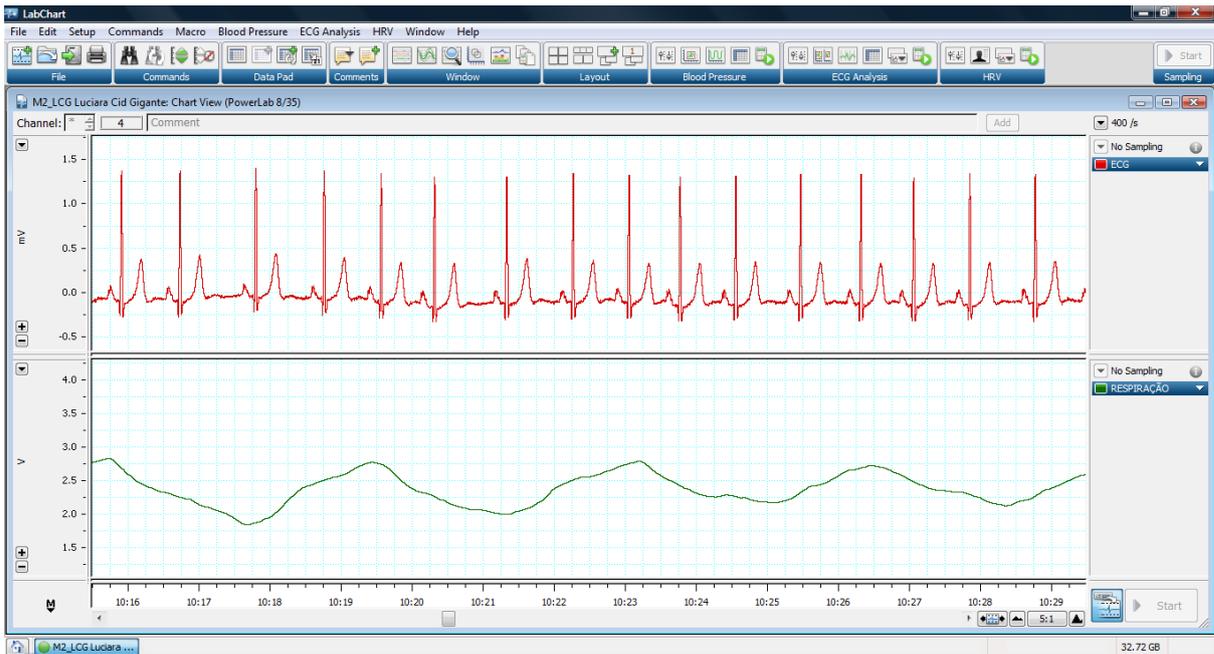


Figura 3. Ilustração da tela de captação dos sinais eletrocardiográficos e dos movimentos respiratórios de uma das participantes do estudo.

2.2.5. Análise dos Dados

Foram selecionadas, para cada participante, sequências de iRR com comprimentos de 250 batimentos. A sequência de iRR de maior estabilidade foi escolhida da região central da série temporal, sendo que os trechos iniciais e finais foram descartados. A mesma sequência foi utilizada para as análises linear e não linear. A média e a variância dos iRR também foram calculadas.

2.2.5.1. Análise Linear da VFC – Análise Espectral

A análise espectral da VFC foi realizada por meio de um modelo auto-regressivo (MALLIANI et al., 1991; PAGANI et al., 1986) em sequências de iRR previamente selecionadas. Dois componentes espectrais principais foram considerados, sendo eles de baixa frequência (BF: 0,04-0,15 Hz) e alta frequência (AF: 0,15-0,50 Hz). Os componentes espectrais foram apresentados em unidades absolutas (BF e AF) e em unidades normalizadas (BFun e AFun) e razão BF/AF (TASK FORCE 1996). A normalização consistiu na divisão da potência de um dado componente espectral (BF ou AF) pela potência total menos a potência abaixo de 0,04 Hz, multiplicando a razão por 100 (MALLIANI et al., 1991; PAGANI et al., 1986). O componente BF expressa as modulações simpática e vagal simultaneamente, mas este índice em unidades normalizadas (BFun) representa melhor a modulação cardíaca simpática. Já o componente AF é um indicador da modulação cardíaca vagal (TASK FORCE

1996). A frequência respiratória foi avaliada para assegurar que esta se encontrava na faixa incluída na banda de AF. A respiração de todas as voluntárias estava dentro da faixa de AF, com exceção de uma mulher submetida à TRH, a qual foi excluída do estudo.

2.2.5.2. Análise Não Linear da VFC – Análise Simbólica

A análise simbólica da VFC foi descrita por Porta et al. (2001). Resumidamente, esta abordagem baseia-se na classificação da sequência de iRR em seis níveis (de 0 a 5), transformando-os em uma sequência de símbolos, a partir dos quais houve a construção de padrões (sequência de 3 símbolos), como demonstrado na Figura 4A. Todos os possíveis padrões foram agrupados sem perdas em 4 famílias, de acordo com o número e o tipo de variações entre os símbolos subsequentes: 1) 0V: padrão sem variação [3 símbolos iguais, por exemplo, (2,2,2) ou (4,4,4)], 2) 1V: padrão com uma variação [2 símbolos subsequentes iguais e outro diferente, por exemplo, (4,2,2) ou (4,4,3)], 3) 2LV: padrão com 2 variações iguais [os 3 símbolos formam uma rampa ascendente ou descendente, por exemplo, (5,4,2) ou (1,3,4)], e 4) 2UV: padrão com 2 variações diferentes [os 3 símbolos formam um pico ou um vale, por exemplo, (4,1,2) ou (3,5,3)] (Figura 4B). As taxas de ocorrência destas famílias (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%) foram avaliadas no presente estudo. Estudos prévios envolvendo bloqueio farmacológico (GUZZETTI et al., 2005) e testes autonômicos (PORTA et al., 2001; PORTA et al., 2007a) indicaram que os índices 0V% e 2UV% são os marcadores mais específicos, dentro do conjunto acima mencionado, para avaliar modificações da modulação autonômica cardíaca, sendo que 0V % e 2UV % são índices representativos da modulação cardíaca simpática e da modulação cardíaca vagal, respectivamente.

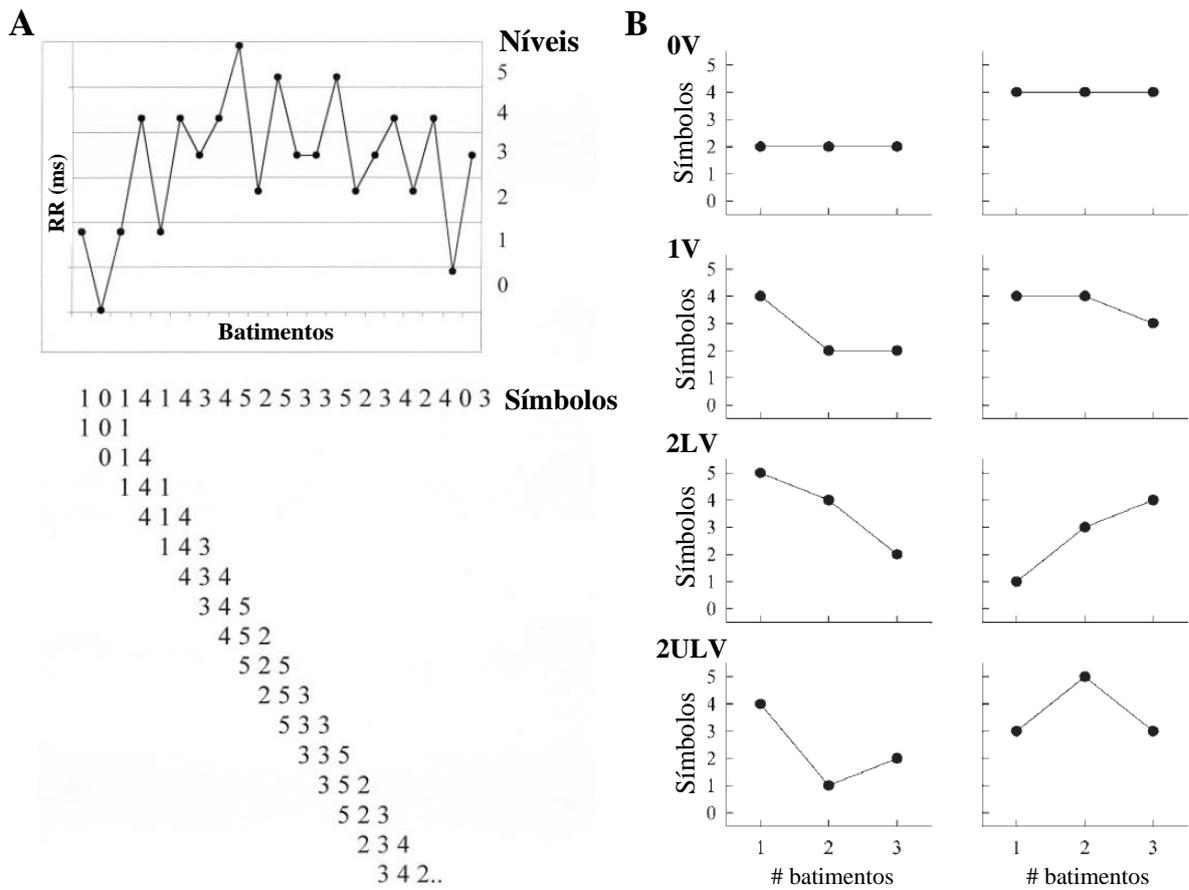


Figura 4. Análise Simbólica. A - Ilustração resumida do método de análise simbólica. As séries de RR foram uniformemente distribuídas em 6 níveis (de 0 a 5). Cada nível foi identificado por um símbolo (número) e o padrão com comprimento de 3 símbolos foram construídos. B - Representação de exemplos de padrões sem variações (0V), padrões com uma variação (1V), padrões com duas variações similares (2LV) e padrões com duas variações diferentes (2UV). Adaptado de Porta et al. (2007a) *Am J Physiol Heart Circ Physiol* e Guzzetti et al. (2005) *Circulation*.

2.2.5.3. Análise Não Linear da VFC – Entropias de Shannon e Condicional

A análise da complexidade da VFC foi realizada por meio da entropia de Shannon (ES) e da entropia condicional (EC). A ES representa a complexidade da distribuição dos padrões: o índice é alto se a distribuição for plana (todos os padrões são igualmente distribuídos e a série transporta o máximo de informações), enquanto o índice é baixo se alguns padrões forem mais prováveis, sendo outros faltantes ou ausentes (PORTA et al., 2001).

A EC é calculada para quantificar a informação transportada por uma nova amostra que não pode ser obtida a partir de uma sequência de valores passados, isto é, a EC se

relaciona às medidas de complexidade da relação dinâmica entre um padrão e o próximo iRR (PORTA et al., 2001). A EC foi modificada para definir a EC corrigida (ECC). Em função dos valores passados, foi demonstrado que a ECC: (1) mantém-se constante no caso de ruído branco, (2) reduz a zero no caso de sinais totalmente previsíveis, e (3) exibe um valor mínimo se padrões repetitivos são incorporados no ruído.

O valor mínimo para a ECC foi considerado como o índice de complexidade (IC), o qual foi expresso em números naturais. Este índice foi normalizado pela ES da série de iRR para se obter o IC normalizado (ICN), o que permitiu a expressão da complexidade em unidades adimensionais. O ICN varia de 0 (informação nula) a 1 (o máximo de informação). Quanto maior for o IC e o ICN, maior a complexidade e menor a regularidade da série (PORTA et al., 2007b).

2.2.6. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software Sigma Plot 11.0 for Windows*. As comparações entre os grupos foram analisadas pelo teste t não pareado ou teste de *Mann-Whitney*, quando apropriado. As relações entre AFun e índices de complexidade foram verificadas pela correlação de *Pearson* ou *Spearman*, dependendo da normalidade dos dados. Os dados foram apresentados em média \pm DP, com um nível de significância de $p < 0,05$.

2.3. RESULTADOS

A Tabela 1 mostra idade, características antropométricas e clínicas, tempo de menopausa e tempo de TRH dos grupos avaliados. Nenhuma das variáveis apresentou diferenças significativas entre os grupos. É importante ressaltar que uma análise de variância prévia (ANOVA de uma via ou teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* de uma via, dependendo da normalidade dos dados) foi realizada, subdividindo-se as mulheres submetidas à THR (G2) de acordo com o tipo de hormônio utilizado. Essas análises mostraram que o tipo de hormônio não afetou as respostas das variáveis estudadas, considerando-se o número de participantes de nosso estudo. Por esse motivo, reunimos os dados das voluntárias que faziam uso da TRH em apenas um grupo.

Tabela 1. Idade, características antropométricas e clínicas de cada grupo estudado.

Características	Mulheres sem TRH	Mulheres com TRH
	(n=20)	(n=20)
Idade (anos)	60±5,89	59±5,70
Massa corporal (Kg)	62,86±9,35	61,50±7,98
Altura (m)	1,58±0,07	1,57±0,05
IMC (Kg/m ²)	25,23±3,23	25,01±3,21
Tempo de menopausa (anos)	11±5,51	9±5,54
Tempo de TRH (anos)	---	7±4,61
PAS (mmHg)	119,68±10,64	116,50±10,77
PAD (mmHg)	73,68±8,51	77,50±7,86
MET (unidade)	8,48±2,18	9,91±3,96
Glicemia (mg/dL)	89,69±10,18	88,91±9,94
Triglicérides (mg/dL)	101,25±34,11	136,07±81,29
Colesterol total (mg/dL)	199,13±44,97	219,73±50,05
LDL colesterol (mg/dL)	114,00±44,97	131,60±38,68
HDL colesterol (mg/dL)	61,53±15,69	60,60±11,09

Dados expressos em média ± DP. HDL: lipídio de alta densidade, IMC: índice de massa corporal, LDL: lipídio de baixa densidade, MET: equivalente metabólico obtido em teste de esforço máximo, PAD: pressão arterial diastólica, PAS: pressão arterial sistólica, TRH: terapia de reposição hormonal.

As análises espectral e simbólica da VFC, bem como as entropias de Shannon e condicional são mostradas na Tabela 2. O efeito da TRH foi encontrado na análise espectral da modulação autonômica cardíaca. Os índices BF, BFun e razão BF/AF foram maiores, enquanto AFun foi menor em mulheres submetidas à TRH (G2) em relação às mulheres que não faziam uso da terapia (G1). Ainda, a média dos iRR foi maior entre as mulheres submetidas à TRH (G2) em comparação às mulheres não submetidas (G1). Por outro lado, a variância dos iRR, análise simbólica e entropias de Shannon e condicional não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 2. Variabilidade da frequência cardíaca, determinada pelas análises espectral e simbólica, bem como entropias de Shannon e condicional.

	Mulheres sem TRH	Mulheres com TRH	p Valor
<i>Análise Linear</i>			
Média iRR (ms)	880,40±68,73	942,40±98,26	0,026
Variância iRR (ms ²)	892,50±625,43	1026,41±816,14	0,508
<i>Análise Espectral</i>			
BF (ms)	140,05±201,48	260,06±264,49	0,004
BFun (un)	26,38±23,93	50,87±22,88	0,002
AF (ms)	410,54±369,01	349,63±691,09	0,156
AFun (un)	71,02±23,17	47,66±22,98	0,003
BF/AF	0,75±1,40	1,89±2,10	0,002
<i>Análise Não Linear</i>			
Entropia de Shannon	3,67±0,46	3,51±0,43	0,253
<i>Entropia Condicional</i>			
IC	1,08±0,20	1,02±0,19	0,390
ICN	0,73±0,09	0,71±0,08	0,589
<i>Análise Simbólica</i>			
0V%	16,18±13,13	20,68±12,65	0,276
1V%	45,51±8,42	47,27±5,87	0,448
2LV%	18,65±11,62	14,32±8,23	0,185
2UV%	19,66±8,43	17,73±7,83	0,458

Dados expressos em média ± DP. AF: alta frequência em unidades absolutas, AFun: alta frequência em unidades normalizadas, BF: baixa frequência em unidades absolutas, BFun: baixa frequência em unidades normalizadas, BF/AF: razão entre baixa frequência e alta frequência, IC: índice de complexidade, ICN: índice de complexidade normalizado, iRR: intervalos RR, TRH: terapia de reposição hormonal, 0V%: padrões sem variações, 1V%: padrões com uma variação, 2LV%: padrões com duas variações iguais, 2UV%: padrões com duas variações diferentes.

Correlações entre a análise linear (AFun) e a análise não linear (índices de complexidade) são apresentadas na Tabela 3. Foi observado que, em mulheres que não utilizavam a TRH (G1), ES e IC apresentaram correlação positiva com AFun, mostrando que quanto maior a modulação vagal, maior a complexidade da VFC. No entanto, o grupo de mulheres submetidas à TRH (G2) não apresentaram a mesma resposta.

Tabela 3. Correlações entre índice espectral e índices de complexidade.

	Mulheres sem TRH		Mulheres com HRT	
	r	p Valor	r	p Valor
AFun				
ES	0,523	0,018	0,380	0,099
ICN	0,278	0,230	0,247	0,293
IC	0,492	0,027	0,220	0,352

AFun: alta frequência em unidades normalizadas, ES: entropia de Shannon, IC: índice de complexidade, ICN: índice de complexidade normalizado, r: coeficiente de correlação, TRH: terapia de reposição hormonal.

2.4. DISCUSSÃO

Os principais achados deste estudo foram: (1) a análise comparativa entre os grupos avaliados, na posição supina, mostrou que as mulheres não submetidas à TRH apresentaram maior modulação cardíaca vagal e menor modulação cardíaca simpática, conforme evidenciado pela análise espectral; (2) embora os índices simbólicos e de complexidade da modulação autonômica cardíaca não tenham apresentado diferenças entre os grupos estudados, constatou-se que, apenas em mulheres não usuárias de TRH, quanto maior a modulação vagal, maior é a complexidade da VFC, enquanto o grupo de mulheres submetidas à TRH não apresentou este mesmo comportamento, como um provável resultado do baixo valor da modulação vagal abaixo de um limiar de resposta.

No presente estudo, a análise espectral da modulação autonômica cardíaca (método linear) mostrou que as mulheres que não faziam uso de TRH apresentaram maior VFC, caracterizada por menor modulação cardíaca simpática e maior modulação cardíaca vagal, em comparação às mulheres submetidas à terapia. Liu et al. (2003) avaliaram a VFC, por meio da análise espectral, de mulheres usuárias e não usuárias de TRH, com idades médias de 57 e 59 anos, respectivamente. Os autores observaram que as mulheres submetidas à terapia apresentaram maior modulação vagal e menor modulação simpática do que as mulheres que não faziam uso da TRH (LIU et al., 2003). Estes achados são conflitantes com os resultados do presente estudo. Além disso, Neves et al. (2007) compararam a VFC nas posições supina e sentada em mulheres de meia-idade submetidas e não submetidas à TRH, com idades médias de 53 e 56 anos, respectivamente. Não foram encontradas diferenças na modulação

autônômica cardíaca na posição supina, sendo que, na posição sentada, foram observadas maior modulação vagal e menor modulação simpática nas mulheres que faziam uso de TRH em comparação às mulheres que não faziam (NEVES et al., 2007).

Nossos dados sugerem que as usuárias de TRH parecem não apresentar vantagens em relação à modulação autônômica da FC na posição supina, quando comparadas às não usuárias, apesar da terapia promover redução dos sintomas da menopausa.

Christ et al. (1999) avaliaram a VFC, PA e FC em repouso supino de mulheres que faziam uso somente de estrogênio e mulheres que utilizavam estrogênio associado à progesterona, ambos os grupos com idade média de 58 anos de idade. Os autores observaram que a PA não foi afetada pela TRH, ao passo que a FC foi significativamente maior no grupo de terapia combinada (estrogênio associado à progesterona). No que diz respeito à VFC, foi encontrado que os índices no domínio do tempo, representando a modulação vagal (pNN50 e RMSSD), foram menores no grupo TRH (incluindo os dois tipos de terapia). No entanto, considerando-se a análise entre os subgrupos com diferentes hormônios, foi observada uma redução significativa da modulação vagal apenas nas mulheres submetidas à terapia combinada (estrogênio associado à progesterona), comparadas ao grupo controle. Christ et al. (1999) concluíram que a TRH poderia atenuar a VFC em mulheres saudáveis na pós-menopausa, sendo que uma redução nessa variável poderia indicar um risco aumentado de mortalidade cardiovascular. No entanto, estes autores sugerem que este efeito parece ser limitado à TRH contendo progesterona (CHRIST et al., 1999).

Assim, devemos considerar os diferentes tipos de hormônios em uso por nossa amostra [estrogênio equino conjugado, estrogênio equino conjugado associado à medroxiprogesterona, estrogênio sintético (tibolona), estradiol associado a acetato de noretisterona ou isoflavonóides]. Embora a análise estatística tenha mostrado que o tipo de hormônio não influenciou os resultados, este fato poderia explicar porque os nossos achados contradizem os de estudos mostrando que a TRH com estrogênio promove a melhora da VFC, caracterizada por maior modulação cardíaca vagal (GÖKÇE et al.; 2005; LIU et al., 2003) e menor modulação cardíaca simpática (LIU et al., 2003; ROSANO et al., 1997). Adicionalmente, Neves et al. (2007) encontraram esse mesmo comportamento, representado por maior modulação vagal e menor modulação simpática, em mulheres submetidas à TRH, na posição sentada.

Além disso, Gökçe et al. (2005) avaliaram os efeitos da TRH sobre a VFC de mulheres com idade média de 55 anos, observando que a terapia com estrogênio aumentou os índices relacionados à modulação vagal, ao passo que a terapia com estrogênio associado à

progesterona não apresentou alterações significativas na VFC. Além disso, Fernandes et al. (2005) relataram que, tanto a TRH apenas com estrógeno quanto com estrógeno associado à progesterona, durante 3 meses, não promoveram melhorias na modulação autonômica cardíaca de mulheres com idades médias de 55 e 54 anos, respectivamente.

Por outro lado, Lantto et al. (2012) observaram que a utilização de estrógeno combinado a acetato de medroxiprogesterona, durante 6 meses, pode ter efeitos adversos sobre a VFC de mulheres com e sem ondas de calor. Ainda, mulheres submetidas à terapia combinada podem apresentar um aumento da ocorrência de arritmia cardíaca, em comparação a mulheres submetidas à TRH apenas com estrógeno (LANTTO et al., 2012). Além disso, Hautamäki et al. (2012) relataram que a TRH realizada somente com estrógeno provoca mudanças benéficas na FC de repouso e em resposta ao teste de prensão manual, sendo que estes efeitos são parcialmente anulados em mulheres que fazem uso da TRH combinada (estrógeno associado a acetato de medroxiprogesterona) (HAUTAMÄKI et al., 2012).

Por outro lado, Magri et al. (2006) avaliaram o efeito da TRH sobre a VFC, coletada por 24 horas por meio de *Holter*, em um grupo de mulheres com idade média de 54 anos, submetidas à TRH com diferentes tipos de hormônios (estrógeno, progesterona e tibolona) por $2,2 \pm 2,0$ anos. Foi observado que as mulheres que faziam uso da TRH apresentaram maior modulação simpática durante o dia, em comparação às que não usavam, como evidenciado pelo componente espectral BF (MAGRI et al., 2006). Esse achado corrobora com nossos resultados, os quais mostraram um aumento da modulação simpática no grupo TRH, como revelado por uma significativa diferença no índice BFun da análise espectral.

Além disso, Virtanen et al. (2008) avaliaram o efeito da TRH com estrógeno sobre a VFC noturna, por meio de índices não lineares, tais como entropia aproximada, coeficientes de *Poincaré* e índices de escala fractal. Os autores relataram que a terapia atenuou os índices, o que pode ser considerado sinal de um possível efeito deletério sobre a saúde cardiovascular noturna das mulheres em uso deste tipo de TRH (VIRTANEN et al., 2008). Além disso, Fletcher e Colditz (2002) mostraram que a terapia apenas com o estrógeno parece ser mais segura do que a TRH combinada, uma vez que a adição de progesterona pode aumentar o risco de doença cardíaca coronariana (FLETCHER e COLDITZ, 2002).

Com relação à análise não linear da VFC, é importante enfatizar que os métodos não lineares – análise simbólica e entropias – diferem de abordagens tradicionais – análise espectral – por considerarem diferentes propriedades dinâmicas das séries temporais da FC, sendo que a análise linear considera a amplitude das variações de FC, enquanto a análise não linear é mais dedicada à avaliação da riqueza da escala temporal presente na série de FC (ou

seja, a dinâmica da complexidade) (HUIKURI et al., 1999; HUIKURI et al., 2003; JOKINEN et al., 2003; MÄKIKALLIO et al., 2001; MÄKIKALLIO et al., 2002). Assim, a análise simbólica e as entropias de Shannon e condicional mostraram-se eficazes para avaliar a modulação autonômica da FC em outras populações saudáveis (GUZZETTI et al., 2005; PERSEGUINI et al., 2011; PORTA et al., 2007a; TAKAHASHI et al., 2012). No presente estudo, com relação à análise entre os grupos avaliados, observou-se que a TRH não afetou a complexidade de distribuição dos padrões e a regularidade destes padrões, avaliadas por meio da análise simbólica e das entropias de Shannon e condicional.

Por outro lado, a análise de correlação entre AFun (método linear) e os índices de complexidade (métodos não lineares) constatou que, em mulheres não submetidas à TRH, quanto maior a modulação vagal, maior é a complexidade da VFC. No entanto, este mesmo comportamento não foi encontrado no grupo de mulheres que faziam uso da terapia. Estes resultados são corroborados por estudos envolvendo bloqueio farmacológico e análise de complexidade da VFC, os quais mostraram que uma redução da modulação vagal leva à diminuição nos índices de complexidade. De acordo com Porta et al. (2007c) e Porta et al. (2013), o bloqueio vagal induzido por altas doses de atropina mantém o marcapasso cardíaco sob o controle exclusivo do sistema nervoso simpático, reduzindo a complexidade do controle cardíaco. Além disso, Porta et al. (2013) e Porta et al. (2012) relataram que o bloqueio simpático obtido por meio da administração de propranolol não altera a complexidade, sugerindo que a contribuição da modulação simpática na complexidade não é significativa.

Assim, os resultados do presente estudo sugerem que mulheres não submetidas à TRH apresentaram efeitos favoráveis sobre a modulação autonômica cardíaca, caracterizados por uma maior modulação vagal e menor modulação simpática, avaliadas pela análise espectral. Além disso, a análise da complexidade mostrou que apenas as mulheres não usuárias de TRH apresentaram relação positiva entre a modulação vagal e a complexidade da VFC. Considerando-se que esta correlação significativa é esperada, a ausência desta associação em mulheres submetidas à TRH sugere que, neste grupo, a modulação vagal se mantém abaixo de um valor mínimo, impedindo que a relação se torne aparente. Pode-se supor que este valor mínimo de modulação vagal encontrado nas mulheres submetidas à TRH seja menos favorável em relação ao nível de modulação vagal observado nas mulheres que não utilizavam a terapia. Assim, considerando-se do ponto de vista do controle autonômico do sistema nervoso sobre o coração, tanto a análise espectral quanto a análise da complexidade mostraram que a TRH, independentemente do tipo de hormônio, parece não ser vantajosa para a modulação autonômica cardíaca na faixa etária estudada. Portanto, devemos considerar que

a associação de métodos lineares e não lineares para análise da VFC é importante para uma compreensão mais completa sobre a modulação autonômica cardíaca em diferentes situações.

Assim, embora a TRH reduza os sintomas da menopausa (ondas de calor, ondas de frio, irritabilidade, alterações de humor e depressão), melhorando a qualidade de vida, a terapia parece não ter efeitos benéficos sobre a VFC. Uma possível compensação para os efeitos da TRH sobre a modulação autonômica cardíaca seria a realização de exercícios aeróbicos, que são capazes de promover o aumento da modulação vagal e melhora da VFC (ALBINET et al., 2010).

O presente estudo apresentou alguns fatores limitantes, como a falta de dosagem do hormônio folículo estimulante (FSH), como uma forma de avaliar a menopausa. Contudo, a fase de pós-menopausa foi clinicamente assegurada por amenorreia de pelo menos 1 ano. Ainda, ressalta-se que as participantes do estudo apresentaram uma média de tempo de menopausa em torno de 10 anos. Outra limitação foi a ausência de um grupo recebendo um placebo hormonal. No entanto, o objetivo deste estudo foi avaliar as diferenças na modulação autonômica cardíaca entre um grupo de mulheres usuárias de TRH e outro grupo que não fazia uso da terapia, e não avaliar a eficácia do hormônio. Além disso, outra limitação deste estudo foi a não homogeneidade do grupo TRH com relação ao tipo de hormônio. Entretanto, devemos considerar que as mulheres que se submetem à TRH na população em geral usam diferentes tipos de hormônios, fato este que leva a dificuldades para a triagem e seleção de um grupo homogêneo. Além disso, uma análise prévia realizada neste estudo mostrou que o tipo de hormônio não influenciou nos índices da VFC, o que permitiu avaliar um único grupo em uso de terapia hormonal, o qual foi denominado G2.

2.5. CONCLUSÕES

Com base em nossos resultados, concluímos que as mulheres que não utilizavam a TRH apresentaram maior modulação cardíaca vagal e menor modulação cardíaca simpática, em termos de propriedades quantitativas avaliadas pela análise linear. Além disso, a relação positiva entre a modulação cardíaca vagal e a complexidade da VFC sugere que as mulheres não submetidas à TRH apresentaram controle autonômico cardíaco mais favorável, uma vez que esta modulação atingiu valores suficientes para tornarem aparentes as relações com os índices de complexidade, em comparação às mulheres que faziam uso da terapia. Estes achados mostraram que a TRH não foi vantajosa para a modulação autonômica cardíaca nos grupos avaliados, independentemente do tipo de hormônio.

3. ESTUDO II

(Versão em Português com inclusão de ilustrações)

Natália M. Perseguini, Rozangela Verlengia, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Anielle C.M. Takahashi, Barbara Santana-Lemos, Rodrigo Calado, Pedro Ferreira Filho, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Modulação autonômica cardíaca, proteína C-reativa e comprimento de telômeros: nova perspectiva relacionada ao processo de envelhecimento.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo analisar o efeito do envelhecimento sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) nas posições supina e ortostática, os níveis séricos da proteína C-reativa ultra sensível (PCRus) e o comprimento de telômeros leucocitários, além de verificar em qual faixa etária se acentuam as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento e identificar qual variável é primeiramente afetada pela idade. Foram avaliados 110 voluntários, divididos em cinco grupos, de acordo com a idade: G21-30 anos, G31-40 anos, G41-50 anos, G51-60 anos e G61-70 anos. Amostras de sangue venoso foram coletadas para medidas de PCRus e comprimento de telômeros. Os intervalos RR (iRR) foram registrados em repouso nas posições supina e ortostática (15 min em cada postura). A VFC foi avaliada por índices de baixa e alta frequências em unidades absolutas (BF e AF) e normalizadas (BFun e AFun) da análise espectral; índices 0V%, 1V%, 2LV% e 2UV% da análise simbólica; entropia de Shannon; e índice de complexidade (IC) e IC normalizado (ICN) da entropia condicional. Os testes ANOVA de uma via (*post hoc* Teste de Tukey) ou *Kruskal-Wallis* (não paramétrico, *post hoc* Teste de Dunn's), dependendo da normalidade dos dados, analisaram o efeito da idade. A análise multivariada entre VFC, PCRus e comprimento de telômeros foi realizada por meio da análise por componentes principais. Os principais resultados foram: 1) redução de AF e 2UV% (modulação vagal) em G51-60, além de aumento de 0V% (modulação simpática) e diminuição de ICN (complexidade) em G61-70 na posição supina; 2) resposta menos eficiente à manobra de mudança postural de supino para ortostatismo com o avanço da idade; 3) aumento da PCRus em G51-60; 4) encurtamento do comprimento de telômeros em G61-70; 5) na posição supina, os índices da VFC apresentaram relação mais alta com o componente principal 1 proveniente da análise multivariada por componentes principais, comparados à PCRus e ao comprimento de telômeros. Considerando-se que os índices da VFC na posição supina apresentaram uma associação mais forte com o envelhecimento, em comparação ao marcador inflamatório e ao comprimento de telômeros, podemos concluir que a diminuição da modulação cardíaca vagal possa ter contribuído para o aumento dos níveis séricos de PCRus, apesar dos valores estarem dentro de faixa de normalidade, na faixa etária de 51 a 60 anos, uma vez que este efeito é descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. A diminuição da modulação cardíaca vagal e o aumento da PCRus podem ter contribuído para o encurtamento de telômeros, identificado na década seguinte, de 61 a 70 anos.

Palavras-chave: Variabilidade da frequência cardíaca, Análise simbólica, Entropia condicional, Análise espectral; Proteína C-reativa; Comprimento de telômeros.

3.1. INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento está associado à redução da habilidade de interação entre sistemas biológicos (PIKKUJÄMSÄ et al., 1999; PINCUS, 1995), sendo que a regulação homeostática prejudicada é refletida pela perda de complexidade, comprometendo uma resposta apropriada a estressores (KAPLAN et al., 1991; LIPSITZ et al., 1992; PIKKUJÄMSÄ et al., 1999; VARADHAN et al., 2009). Dessa maneira, o processo de envelhecimento exerce influência sobre vários sistemas do corpo humano, atingindo, dentre eles, o sistema nervoso autônomo (SNA), que atua na regulação de funções vitais, podendo ser avaliado de forma não invasiva por meio da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (CATAI et al., 2002; LAKATTA e LEVY, 2003; MELO et al., 2005; ZHANG, 2007; ZULFIQAR et al., 2010); as estruturas celulares, como o comprimento de telômeros (AUBERT and LANSDORP, 2006; BARCELÓ et al., 2010; CALADO and YOUNG, 2012); e também os mecanismos reguladores de processos inflamatórios, os quais podem ser avaliados por marcadores inflamatórios (ALVAREZ-RODRÍGUEZ et al., 2012; FULOP et al., 2006), como a proteína C-reativa (PCR).

O estudo da VFC, que descreve as oscilações entre batimentos cardíacos consecutivos, denominados intervalos RR (iRR) (TASK FORCE, 1996), pode ser utilizado como um preditor, uma vez que baixa VFC está relacionada a altas taxas de morbidade e mortalidade cardiovascular (BIGGER et al., 1992). O efeito do envelhecimento sobre a VFC tem sido amplamente estudado por meio de métodos de análises lineares, sendo observada sua redução conforme o aumento da idade (BIGGER et al., 1992; CATAI et al., 2002; LAKATTA e LEVY, 2003; LIPSITZ et al., 1990; MELO et al., 2005; ZHANG, 2007).

Ainda, sabe-se que a VFC é influenciada pela presença de marcadores inflamatórios circulantes, como a PCR, a qual tem sido utilizada como prognóstico e na estratificação de risco de pacientes com doença cardiovascular (MORROW et al., 1998; PEARSON et al., 2003). Assim, estudos mostram que o aumento da dosagem de PCR leva à redução da VFC (HAENSEL et al., 2008; SLOAN et al., 2007). Singh et al. (2009) também relataram que a dominância relativa do tônus parassimpático sobre o tônus simpático estava associada com menor nível sérico de PCR. De acordo com diversos autores (HAENSEL et al., 2008; MADSEN et al., 2007; NOLAN et al., 2007; ULLOA, 2005), existem inferências de que o nervo vago possa modular a resposta imunológica e conseqüentemente ter uma ação anti-inflamatória sistêmica, como descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. Segundo a revisão de Haensel et al. (2008), o estudo de marcadores inflamatórios, como PCR, e índices

não lineares da VFC é importante para o melhor entendimento da interação entre o processo inflamatório e a modulação do SNA sobre o coração.

Além disso, estudos mostram que o processo de envelhecimento também interfere no comprimento dos telômeros (BARCELÓ et al., 2010; CALADO e YOUNG, 2012), que são estruturas especializadas de DNA localizadas no final dos cromossomos eucarióticos, reguladoras da duração da vida celular e da integridade do cromossomo (WONG e COLLINS, 2003). Estas estruturas são compostas por milhares de sequências repetidas de DNA em paralelo (TTAGGG em humanos) e são envolvidas na manutenção da estabilidade celular (CALADO e YOUNG, 2012). Devido ao fato da DNA polimerase não ser capaz de concluir completamente a replicação do final 3' do DNA, o comprimento dos telômeros diminui progressivamente a cada divisão, sendo por essa razão um indicador do envelhecimento celular (HARLEY et al., 1990). Estudos mostram que estresse oxidativo e processos inflamatórios aceleram a taxa de desgaste do telômero, sendo que o encurtamento desta estrutura está relacionado ao aparecimento de doenças crônico-degenerativas associadas ao envelhecimento (EPEL et al., 2004; FUSTER e ANDRÉS, 2006).

O valor prognóstico da medida do telômero é relatado em alguns estudos, mostrando que reduzido comprimento de telômero leucocitário é associado à mortalidade em pacientes com doença da artéria coronária estável (FARZANEH-FAR et al., 2008) e à alta incidência de eventos de doença coronariana (YE et al., 2013). Estes estudos suportam a importância de se avaliar a relação entre modulação autonômica cardíaca e comprimento de telômeros, uma vez que esta estrutura pode ser influenciada pela presença de processo inflamatório.

No entanto, não foram encontrados estudos avaliando os efeitos do envelhecimento sobre a modulação autonômica cardíaca, o comprimento de telômeros e os níveis séricos do marcador inflamatório PCR ultra sensível (PCRus) de indivíduos saudáveis de diferentes faixas etárias. A análise conjunta dessas variáveis permitirá o estudo do processo de envelhecimento de forma multidimensional, possibilitando a identificação de uma faixa etária, a partir da qual as alterações provocadas pelo processo de senescência se tornem mais acentuadas. Dessa maneira, se tornaria possível a proposição de medidas de saúde educativas e preventivas, amenizando os efeitos naturalmente ocasionados pelo avançar da idade.

A hipótese deste estudo é de que o processo de envelhecimento provocaria alterações em todas as variáveis estudadas, ocorrendo diminuição da VFC e do comprimento dos telômeros e aumento dos níveis séricos de PCRus. Ainda, considerando a via anti-inflamatória colinérgica, é hipotetizado que, com o envelhecimento, a diminuição da modulação cardíaca vagal contribuiria para o aumento dos níveis do marcador inflamatório, o qual, por sua vez,

poderia contribuir para o encurtamento de telômeros. No entanto, ainda não está esclarecida em qual fase da vida se iniciariam as alterações decorrentes do envelhecimento e se essas modificações ocorreriam anteriormente em alguma determinada variável. Os objetivos do presente estudo foram: (1) analisar o efeito do envelhecimento sobre a modulação autonômica cardíaca em supino e em resposta à mudança postural, os níveis séricos da PCRus e o comprimento de telômeros leucocitários; (2) verificar em qual faixa etária se acentuam as alterações provocadas pelo processo natural de envelhecimento, bem como qual variável é afetada primeiramente pela idade.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Sujeitos

Os participantes elegíveis para o estudo foram triados e selecionados na região da cidade de São Carlos, estado de São Paulo. A pesquisa foi divulgada por meio de cartazes, jornais e internet. Foram estudados 110 indivíduos aparentemente saudáveis de ambos os gêneros, divididos de acordo com a faixa etária em 5 grupos com 22 sujeitos cada, sendo 11 homens e 11 mulheres: G21-30 (idade entre 21 e 30 anos), G31-40 (idade entre 31 e 40 anos), G41-50 (idade entre 41 e 50 anos), G51-60 (idade entre 51 e 60 anos) e G61-70 (idade entre 61 e 70 anos). Todos os participantes foram submetidos a anamnese, exame físico, exames laboratoriais, avaliação clínica, eletrocardiograma (ECG) em repouso e teste ergométrico clínico, com a finalidade de avaliar o estado de saúde dos indivíduos e identificar possíveis disfunções cardiovasculares, que pudessem contraindicar a participação no estudo.

Foram incluídos no estudo os indivíduos que apresentaram ECG convencional de 12 derivações sem alterações, tanto em repouso quanto durante o teste ergométrico clínico, e que também não possuíam doenças cardiovasculares, disfunções osteo-mio-articulares, respiratórias, neurológicas ou vasculares incapacitantes diagnosticadas. Foram excluídos do estudo sujeitos etilistas, fumantes, diabéticos, hipertensos, obesos, usuários de drogas ilícitas ou medicamentos que afetassem as respostas das variáveis estudadas, bem como mulheres em uso de medicação anticoncepcional ou reposição hormonal. Ainda, foram excluídos os indivíduos que apresentaram valores de nível sérico de PCRus sugestivos de inflamação aguda, ou seja, acima do limite superior de normalidade: 3,0 mg/L (POTSCH et al., 2006). A Figura 5 apresenta o diagrama de fluxo de inclusão, exclusão e perdas dos indivíduos elegíveis para o estudo.

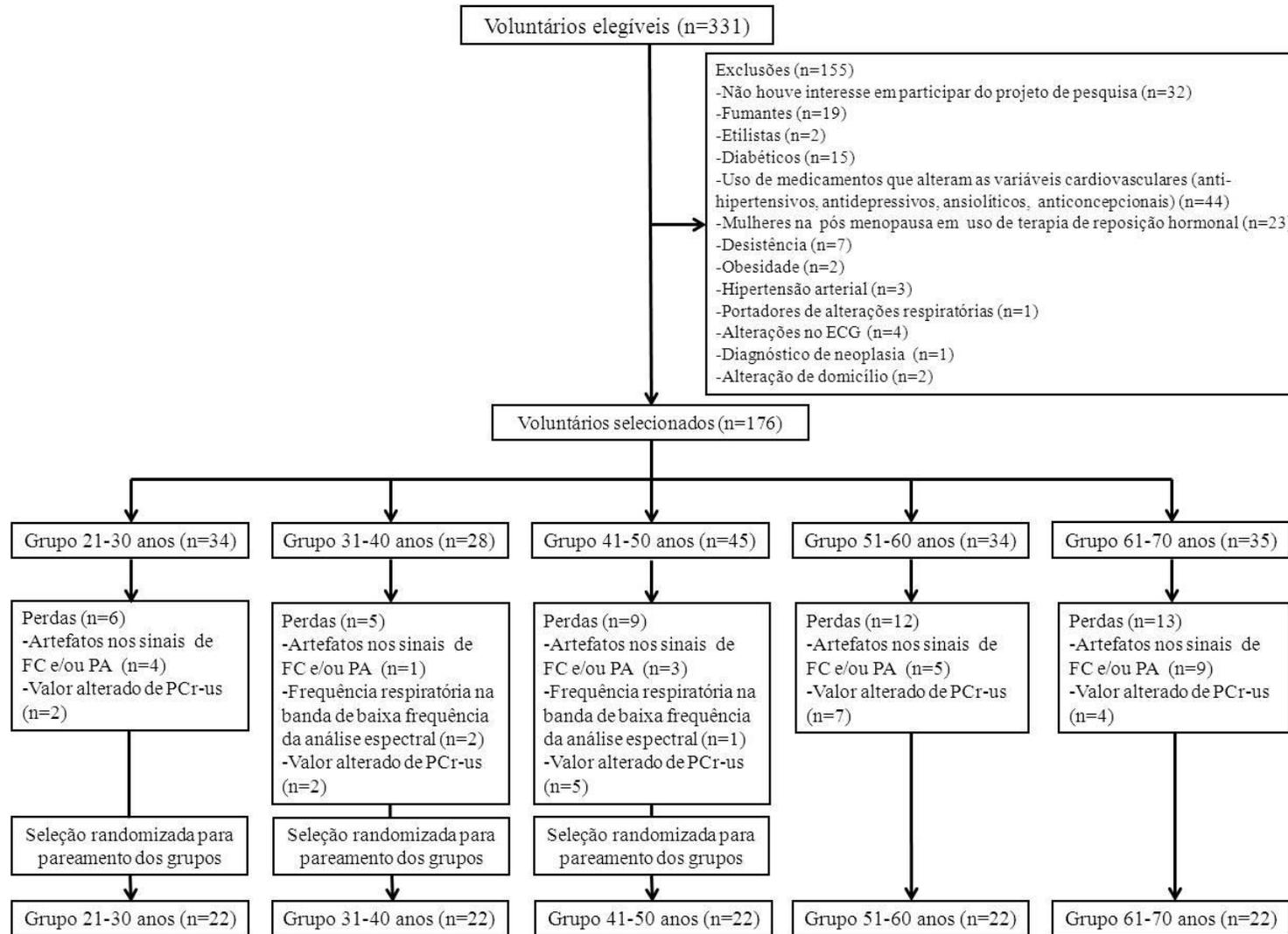


Figura 5. Fluxo de inclusão, exclusão e perda dos indivíduos elegíveis para o estudo.

3.2.2. Aspectos éticos

Os participantes do estudo foram informados a respeito dos procedimentos a serem realizados e, após a livre aceitação em participar da pesquisa, todos os participantes leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme as normas do Conselho Nacional de Saúde. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos, com parecer número 174/2011 (Anexo A).

3.2.3. Procedimento experimental

As avaliações foram realizadas no mesmo período do dia, considerando-se o ciclo circadiano, sendo que os experimentos foram realizados em sala climatizada, controlando-se a temperatura ambiente (21-24°C) e a umidade relativa do ar (40-60%). Os participantes foram orientados para não ingerirem bebidas alcoólicas e/ou estimulantes e evitarem exercícios extenuantes na véspera e no dia do teste, bem como fazer uma refeição leve até duas horas antes da avaliação, e dormir bem no dia anterior. No dia da realização dos testes experimentais, as condições relacionadas ao estado de saúde do participante foram observadas anteriormente ao início do experimento, para verificar a ocorrência de uma noite de sono regular e para confirmar se as variáveis cardiovasculares (FC e PA) estavam dentro dos limites de normalidade. Precedendo a realização do experimento, foi feita uma familiarização com os equipamentos e o procedimento experimental. Ainda, para as mulheres participantes do estudo, que estavam em idade reprodutiva, foi controlada a fase do ciclo menstrual das mesmas, sendo que a avaliação não invasiva da modulação autonômica cardíaca (VFC), a análise dos níveis séricos de PCRus e a coleta da amostra sanguínea para verificação da média relativa do comprimento de telômeros foram realizadas na fase folicular, no período compreendido entre o sétimo e o décimo dias, ou seja, entre o término da menstruação e a metade do ciclo.

3.2.4. Protocolo experimental

Os participantes foram submetidos às seguintes avaliações, realizadas em três visitas, na ordem descrita a seguir: (1) avaliação clínica cardiológica, ECG convencional de 12 derivações em repouso e teste ergométrico clínico, conduzidos por cardiologista, auxiliado pelo fisioterapeuta; (2) teste de exercício cardiopulmonar em esteira ergométrica; (3) exames bioquímicos sanguíneos, coleta de amostras de sangue venoso para análises da PCRus e comprimento de telômeros no período matutino, bem como avaliação não invasiva da

modulação autonômica cardíaca no período vespertino. Foi respeitado um intervalo mínimo de sete dias entre as visitas.

As coletas das amostras de sangue para as análises da PCRus, da média relativa do comprimento de telômeros, bem como dos exames bioquímicos sanguíneos, foram realizadas em laboratório de análises clínicas especializado, no mesmo dia em que foi realizada a aquisição dos sinais biológicos para a avaliação não-invasiva da modulação autonômica cardíaca. A PCRus, avaliada pelo método de turbidimetria, bem como os exames bioquímicos sanguíneos, foram analisados no próprio laboratório especializado, enquanto as médias relativas do comprimento telomérico foram realizadas em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Performance Humana da Universidade Metodista de Piracicaba e com o Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP.

A avaliação clínica cardiológica, ECG convencional de 12 derivações em repouso e teste ergométrico clínico foram realizados na Unidade Saúde Escola, ao passo que a avaliação não invasiva da modulação autonômica cardíaca e o teste de exercício cardiopulmonar foram realizados no Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular - Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico (NUPEF), ambos localizados na Universidade Federal de São Carlos.

3.2.4.1. Teste de exercício cardiopulmonar

Para a classificação funcional aeróbia dos sujeitos, foi realizado o teste de exercício cardiopulmonar em esteira ergométrica (Master ATL, Inbramed, Porto Alegre, Brasil), com protocolo incremental, interrompido na presença de sinais ou sintomas de fadiga relatados pelo participante, como descrito por Neves et al. (2011). Os parâmetros ventilatórios e metabólicos foram captados e registrados respiração a respiração por meio de um sistema ergoespirométrico (CPX/D, Medical Graphics, St. Paul, MN). O consumo de oxigênio (VO_2) observado nos 30 segundos finais do exercício foi definido como VO_2 pico, o qual foi considerado em valor absoluto (mL/min) e valor relativo corrigido pela massa corporal (mL/Kg/min). A monitorização do ECG foi realizada continuamente durante todo o teste por meio de um eletrocardiógrafo (WinCardio, Micromed Biotecnologia Ltda., Brasília, DF, Brasil). A cada dois minutos, a pressão arterial foi mensurada pelo método auscultatório e a percepção de esforço foi avaliada pela Escala de Borg.

3.2.4.2. Avaliação não invasiva da modulação autonômica cardíaca

Anteriormente ao procedimento de registro dos sinais de ECG e movimentos respiratórios, os participantes permaneceram em repouso supino durante 10 minutos para

estabilização das variáveis cardiovasculares. Após isso, foi iniciada a coleta dos sinais biológicos por 15 minutos nessa mesma posição, sendo que após este período, os indivíduos foram orientados a realizar a mudança postural ativa de supino para ortostatismo, permanecendo 15 minutos nessa postura. Os participantes do estudo foram orientados a não falar desnecessariamente e a respirar espontaneamente.

A aquisição do sinal de ECG (derivação MC5) foi realizada por meio de um bioamplificador (Bio Amp PowerLab[®], ADInstruments, Austrália), enquanto os movimentos respiratórios foram obtidos a partir de uma cinta fixada no tórax (Marazza, Monza, Itália). A coleta simultânea dos sinais foi realizada através de um sistema de aquisição de sinais biológicos (PowerLab[®] 8/35, ADInstruments, Austrália), com uma frequência de amostragem de 400 Hz (Figura 6). A ilustração da tela de captação do ECG (iRR) e dos movimentos respiratórios, por meio do *software LabChart 7 Pro*, versão 7.2.1 (ADInstruments, Austrália), está representado na Figura 3.

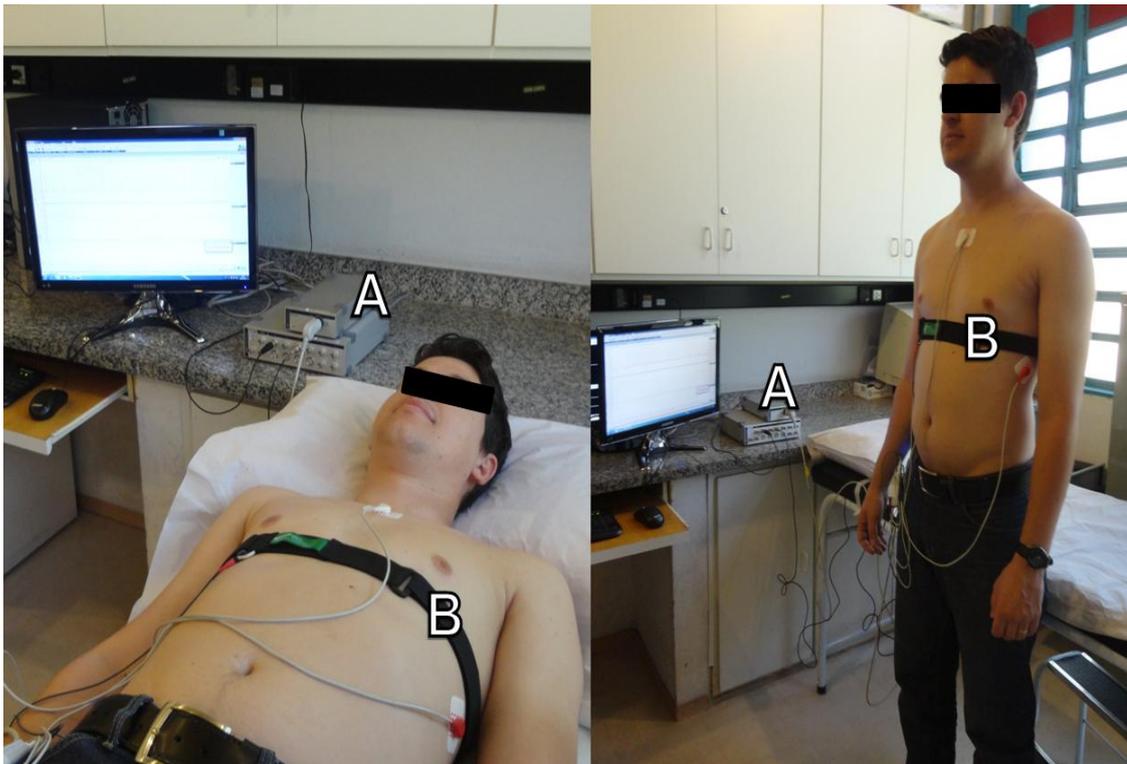


Figura 6. Ilustração do procedimento experimental de coleta dos sinais eletrocardiográficos e movimentos respiratórios, nas posições supina e ortostática. A) sistema de captação do ECG (Bio Amp PowerLab[®], ADInstruments, Austrália) e sistema de aquisição de sinais biológicos (PowerLab[®] 8/35, ADInstruments, Austrália); B) cinta respiratória (Marazza, Monza, Itália).

3.2.5. Processamento de dados

Para o processamento do sinal eletrocardiográfico, foi utilizada uma rotina específica (PORTA et al., 2001), a qual identificava as ondas R do ECG e fazia a extração dos iRR em segundos, possibilitando a análise futura dos dados. Para a análise da VFC de cada participante do estudo, foram selecionadas sequências de iRR de maior estabilidade em cada posição coletada (supino e ortostatismo), com um comprimento de 256 pontos, sendo utilizado o mesmo trecho tanto para a análise linear quanto para a análise não linear da VFC.

3.2.5.1. Análise linear da VFC - Análise espectral

A análise linear da VFC no domínio da frequência (análise espectral) foi realizada por meio de um método autorregressivo (MALLIANI et al., 1991; PAGANI et al., 1986) aplicado à sequência de iR-R previamente selecionada (comprimento de 256 pontos). Foram obtidas as bandas de muito baixa frequência (MBF – entre 0 e 0,04 Hz), baixa frequência (BF – entre 0,04 e 0,15 Hz) e alta frequência (AF – entre 0,15 e 0,50 Hz). Neste estudo, utilizamos as bandas de BF e AF, que caracterizam predominantemente a modulação cardíaca simpática e vagal, respectivamente (TASK FORCE, 1996). Esses componentes espectrais foram expressos em unidades absolutas (BF e AF) e em unidades normalizadas (BFun e AFun) (TASK FORCE, 1996). A normalização das variáveis consistiu na divisão de um dado componente espectral (BF ou AF) pela potência total menos a potência abaixo de 0,04 Hz, multiplicando-se a razão por 100 (MALLIANI et al., 1991; PAGANI et al., 1986).

3.2.5.2. Análise não linear da VFC - Análise simbólica

A análise não linear da VFC pela análise simbólica, descrita por Porta et al. (2001), foi realizada na mesma sequência de iRR de comprimento de 256 pontos, utilizada para a análise espectral. Esta técnica foi feita por meio da distribuição da série de iRR em 6 níveis (0 a 5), transformando-a em uma sequência de símbolos, a partir dos quais houve a construção de padrões (sequência de 3 símbolos), como demonstrado na Figura 4A. Todos os possíveis padrões foram agrupados sem perdas em 4 famílias, de acordo com o número e o tipo de variações entre os símbolos subsequentes: 1) 0V: padrão sem variação [3 símbolos iguais, por exemplo, (2,2,2) ou (4,4,4)], 2) 1V: padrão com uma variação [2 símbolos subsequentes iguais e outro diferente, por exemplo, (4,2,2) ou (4,4,3)], 3) 2LV: padrão com 2 variações iguais [os 3 símbolos formam uma rampa ascendente ou descendente, por exemplo, (5,4,2) ou (1,3,4)], e 4) 2UV: padrão com 2 variações diferentes [os 3 símbolos formam um pico ou um vale, por exemplo, (4,1,2) ou (3,5,3)] (Figura 4B). As frequências de ocorrência destas

famílias (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%) foram avaliadas neste estudo, sendo que trabalhos anteriores, envolvendo bloqueios farmacológicos (GUZZETTI et al., 2005) e testes autonômicos (PORTA et al., 2001; PORTA et al., 2007a), mostraram que o índice 0V% está relacionado à modulação simpática, enquanto o índice 1V% representa a presença simultânea das modulações simpática e vagal, o índice 2LV% corresponde predominantemente à modulação vagal e o índice 2UV% relaciona-se à modulação vagal.

3.2.5.3. Análise não linear da VFC - Entropia de Shannon

A entropia de Shannon (ES) foi calculada para fornecer uma qualificação de complexidade da distribuição dos padrões. A ES é um índice que descreve a forma da distribuição dos padrões, sendo alta se a distribuição é plana (todos os padrões são identicamente distribuídos e a série transporta o máximo de informações) e, pelo contrário, sendo baixa se um subconjunto de padrões é mais comum, enquanto outros estão ausentes ou são pouco frequentes (PORTA et al., 2001).

3.2.5.4. Análise não linear da VFC - Entropia Condicional

A entropia condicional (EC) foi calculada para quantificar a informação transportada por uma nova amostra que não pode ser obtida a partir de uma sequência de valores passados, ou seja, a EC se relaciona às medidas de complexidade da relação dinâmica entre um padrão e o próximo (PORTA et al., 2001). A EC foi modificada para definir a EC corrigida (ECC). Em função de valores passados, foi demonstrado que a ECC: (i) permanece constante em caso de ruído branco, (ii) reduz a zero no caso de sinais totalmente previsíveis; (iii) exibe um valor mínimo se padrões repetitivos são incorporados no ruído.

Ainda, o valor mínimo da ECC foi considerado como índice de complexidade (IC), expresso em números naturais. Esse índice foi normalizado pela entropia de Shannon da série RR para se obter o IC normalizado (ICN), possibilitando exprimir a complexidade em unidades adimensionais. O ICN varia de 0 (informação nula) a 1 (máxima informação) (PORTA et al., 2007b). Quanto maior o IC e o ICN, maior a complexidade e menor a regularidade da série.

3.2.5.5. Determinação do comprimento de telômeros

Para as análises, foram obtidas amostras sanguíneas por punção venosa em tubos a vácuo contendo anticoagulante (EDTA), das quais foram realizadas extração de DNA genômico, utilizando o kit comercial *Illustra blood genomicPrep Mini Spin kit* (GE

Healthcare®, USA), conforme instruções do fabricante. Resumidamente, o DNA genômico foi extraído a partir de um volume de 200 µL de sangue total. Inicialmente, foram adicionados 20 µL de proteinase K a um tubo de microcentrífuga com 200 µL de sangue total, e em seguida, adicionados 400 µL de solução de lise, com homogeneização durante 15 segundos. As amostras foram incubadas durante 10 minutos a temperatura ambiente, com intermitentes homogeneizações, para completa lise das células. Posteriormente, o lisado foi acrescentado à coluna de purificação e submetido à centrifugação a 11.000 x g (Eppendorf, modelo 5800, Alemanha) por um 1 minuto.

A seguir, o sobrenadante foi descartado e acrescentou-se 500 µL de solução de lise sobre a coluna, seguido de nova centrifugação a 11.000 x g. Este passo foi repetido, porém com o uso de 500 µL de tampão de lavagem. Na sequência, a coluna de purificação foi transferida para um novo tubo de microcentrífuga e acrescida sobre a mesma 200 µL de tampão de eluição pré-aquecido a 70°C. Seguiu-se 1 minuto de incubação, a temperatura ambiente, com subsequente centrifugação a 11.000 x g por 1 minuto para obtenção do DNA genômico. O DNA obtido foi aliqotado em volumes de 50 µL e armazenados em freezer - 20°C para posterior análise.

A integridade do DNA genômico foi avaliada por meio da separação eletroforética em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio (0,5 µg/mL) em tampão TBE 1 x a 80 volts, por cerca de 40 minutos. Após, foi observado o perfil eletroforético do DNA genômico, avaliando ausência de degradação. A concentração do DNA foi avaliada por espectrofotometria (NanoVue Spectrophotometer, GE Healthcare®, USA), no comprimento de onda de 260 nm.

A média relativa do comprimento telomérico foi avaliada por meio da técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qPCR) que compara a amplificação das sequências repetitivas do telômero (T) com a amplificação de um gene de cópia única (S) (no caso, o gene que codifica para uma fosfoproteína ribossomal: o 36b4) a partir do DNA genômico de leucócitos humanos, conforme descrito por Cawthon (2002).

Resumidamente, o ensaio, que é baseado na emissão de fluorescência, foi realizado no equipamento Rotor-Gene Q 5plex HRM Platform (Qiagen) em discos de 100 tubos com capacidade para 30 µL. A reação de amplificação tanto para o telômero quanto para o gene 36b4, foi conduzida em um volume final de 24 µL, contendo 12 µL do Rotor-Gene SYBR Green PCR Kit (Qiagen) 1X concentrado, 4 µL da mix de *primers* e 8 µL de cada amostra na concentração de 0,2 ng/µL. Os *primers* foram utilizados na concentração final de 300 nM (*forward* e *reverse*) para o telômero e 500 nM e 300 nM para os *primers forward* e *reverse* do

single gene, respectivamente. O perfil de ciclagem térmica foi de 5 minutos a 95°C para desnaturação inicial, ciclos de 98°C por 7 segundos e 60°C e 58°C por 10 segundos para anelamento e extensão, do telômero e *single gene*, respectivamente. Foram utilizados 25 ciclos para a qPCR do telômero e 35 para o gene 36b4. A especificidade de todas as amplificações foi determinada pela análise da curva de *melting* no final das reações.

As análises das amostras tanto para o telômero quanto para o gene de cópia única foram realizados em triplicata e o valor de *threshold* para ambas as reações foi de 0,1. Além das amostras, cada disco continha uma curva de diluição com seis pontos 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,3125 ng de DNA genômico humano o qual foi usado em todas as corridas (na curva) e como amostra para validação. Cada corrida só foi validada quando o valor do coeficiente de correlação (R^2) da curva foi maior que 0,99. As reações foram analisadas pelo software ROTOR-GENE Q 2.2.3.11.

A razão T/S foi determinada pelo método 2^{-ddCt} onde, o cálculo de dCt foi realizado subtraindo-se o Ct médio do telômero de cada amostra pelo Ct médio do *single gene* (Ct telômero – Ct *single gene*). Para o cálculo do ddCt utilizou-se o Ct médio da curva de diluição (CAWTHON, 2002).

3.2.6. Análise estatística

A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste *Shapiro-Wilk*. Para se avaliar o efeito do envelhecimento nas variáveis idade, dados antropométricos, exames bioquímicos do sangue, VO₂ pico absoluto e relativo, PCRus, média relativa do comprimento de telômeros, índices lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática, bem como a variação destes índices em resposta à mudança postural, foram realizados os testes estatísticos ANOVA de uma via, com *post hoc* Teste de *Tukey*, ou *Kruskal-Wallis* (não paramétrico), com *post hoc* Teste de *Dunn's*, dependendo da normalidade dos dados, considerando-se as diferentes faixas etárias estudadas. Para avaliar a existência de influência dos dados de exames bioquímicos sanguíneos (glicemia de jejum e perfil lipídico) sobre as variáveis de desfecho (índices lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática, PCRus e média relativa de comprimento de telômero) em cada faixa etária, foi realizada a regressão linear multivariada pelo método *stepwise*, sendo que as variáveis que não apresentaram distribuição normal foram transformadas por meio de função logarítmica. Foi utilizado o software *Sigma Plot 11.0 for Windows*, considerando-se um nível de significância $p < 0,05$. Os dados estão apresentados em média \pm desvio-padrão.

Ainda, para a análise multivariada entre as variáveis de desfecho (índices lineares e não lineares da VFC, PCRus e média relativa de comprimento de telômero), foi aplicada a análise por componentes principais. Esta análise fornece, como resultado, combinações lineares das variáveis em estudo, a fim de sumarizar a informação proveniente dessas variáveis originais em componentes principais, que poderiam explicar a maior variação possível dos dados. Foram utilizados dois componentes principais, sendo o primeiro um vetor direcional que melhor se ajusta aos dados, enquanto o segundo representa um vetor direcional ortogonal ao primeiro e que melhor se ajusta à variabilidade dos resíduos dos dados. A contribuição de cada variável de desfecho, bem como sua importância na composição de cada componente principal, foi obtida pela correlação de *Pearson* entre as variáveis e os componentes, segundo proposto por Johnson e Wichern (2007). Os coeficientes de correlação devem ser considerados em módulos, uma vez que os valores positivos e negativos apenas representam a posição da variável na distribuição dos dados em quadrantes. Foi utilizado o *software SAS - Statistical Analysis System*, Versão 9.3 (SAS-Institute Inc. 2010) para os procedimentos relacionados à análise por componentes principais.

3.3. RESULTADOS

Cada faixa etária avaliada foi composta por 22 sujeitos (11 homens e 11 mulheres), sendo: G21-30 (26±2,54 anos; 1,70±0,09 m; 66,23±10,94 Kg; 22,90±2,67 Kg/m²); G31-40 (34±3,03 anos; 1,68±0,10 m; 67,45±12,08 Kg; 23,72±2,47 Kg/m²); G41-50 (44±2,34 anos; 1,68±0,10 m; 72,53±13,42 Kg; 25,42±2,52 Kg/m²); G51-60 (55±3,19 anos; 1,65±0,10 m; 68,62±10,09 Kg; 25,04±2,18 Kg/m²); G61-70 (65±2,68 anos; 1,62±0,10 m; 67,68±10,71 Kg; 25,70±3,12 Kg/m²). Os grupos foram similares em relação à estatura e massa corporal, enquanto G41-50 e G61-70 apresentaram índices de massa corporal (IMC) maiores em comparação a G21-30. Com relação aos exames bioquímicos sanguíneos, a fração HDL (lipídio de alta densidade) do colesterol não apresentou diferenças entre os grupos. Entretanto, G31-40, G41-50, G51-60 e G61-70 apresentaram níveis séricos de colesterol total maiores em comparação a G21-30 (190,91±35,82; 200,73±32,84; 223,27±46,16; 211,82±40,48 e 156,68±28,91 mg/dL, respectivamente), enquanto as frações LDL (lipídio de baixa densidade) do colesterol foram maiores em G41-50, G51-60 e G61-70 do que em G21-30 (122,32±30,53; 135,32±44,20; 127,73±32,42 e 82,91±27,09 mg/dL, respectivamente), além de maior em G51-60 quando comparado à G31-40 (103,50±27,64 mg/dL). Os níveis séricos de triglicérides foram maiores em G51-60 e G61-70 do que em G21-30 (130,77±57,68;

122,82±46,84 e 85,14±50,93 mg/dL, respectivamente), bem como a glicemia de jejum foi maior em G61-70 em comparação a G21-30 (95,18±8,53 e 87,55±4,96 mg/dL, respectivamente). A análise de regressão linear multivariada pelo método *stepwise* mostrou que os dados de exames bioquímicos sanguíneos (perfil lipídico e glicemia de jejum) não apresentaram relação com as respostas das variáveis de desfecho (índices lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática, PCRus e comprimento de telômero) em todos os grupos avaliados.

Já os dados referentes à classificação funcional dos indivíduos, obtidos por meio do teste de exercício cardiopulmonar em esteira, mostraram que o VO₂ pico relativo foi menor em G61-70, em relação a G21-30, G31-40 e G41-50 (24,50±6,38; 33,49±7,10; 36,26±8,48 e 31,23±8,98 mL/Kg/min, respectivamente), bem como G51-60 (28,25±7,42 mL/Kg/min) também foi menor em comparação a G31-40. Ainda, o VO₂ pico absoluto foi menor em G61-70 do que em G31-40 (1703,75±552,88 e 2529,00±919,83 mL/min, respectivamente).

As Tabela 4 e 5 mostram os dados referentes às análises lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática, respectivamente. Na posição supina, a variância dos iRR e o índice BF foram significativamente menores nas faixas etárias G51-60 e G61-70 em comparação a G21-30, além de serem menores em G61-70 do que em G41-50. Da mesma maneira, o índice AF foi estatisticamente menor em G51-60 e G61-70 em relação a G21-30, bem como menor em G61-70 em comparação a G31-40 e G41-50. Ainda, o índice simbólico 0V% foi maior em G61-70 do que em G21-30, enquanto 2UV% foi menor em G51-60 do que em G21-30. Além disso, ICN foi maior em G21-30 e G31-40, em comparação a G61-70.

A análise dos índices da VFC na posição ortostática está apresentada na Tabela 5. Observa-se que a média dos iRR foi maior em G61-70 em relação a G21-30. Já a variância dos iRR e o componente espectral BF foram significativamente menores na faixa etária G61-70 em comparação a G21-30, G31-40 e G41-50, após a mudança de supino para ortostatismo. Ainda, o índice AF foi menor em G51-60 e G61-70 em comparação a G21-30, enquanto o índice simbólico 2UV% foi maior no G61-70 em relação a G31-40.

A Figura 7 mostra a variação (Δ) dos índices lineares e não lineares da VFC em resposta à mudança da posição supina para ortostática (Δ Ortostatismo-Supino). Observa-se que a média dos iRR, AF, AFun, 2UV%, IC e ICN diminuiram, enquanto BFun e 0V% mostraram maiores valores em resposta à mudança postural. As faixas etárias mais elevadas apresentaram uma variação menor significativa em relação aos indivíduos mais jovens, comparando-se as duas posições.

Com relação à análise da PCRus, esse marcador inflamatório apresentou valores, dentro da faixa de normalidade, significativamente maiores em G51-60 em comparação às outras faixas etárias (Figura 8). Já o comprimento dos telômeros leucocitários foi menor em G61-70 do que em G21-30 (Figura 9).

A Tabela 6 mostra os dados de correlação entre os componentes provenientes da análise por componentes principais e as variáveis PCRus, média relativa do comprimento de telômeros e índices lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática. Na posição supina, observamos que o componente 1 representou 54,19% da variação total das variáveis em questão. Este componente apresentou correlações muito altas, altas e moderadas com BFun, AF, AFun 0V%, 2LV%, 2UV%, ICN e IC em todas as faixas etárias estudadas. Entretanto, a PCRus e o comprimento de telômeros apresentaram correlações baixas e muito baixas com o componente principal 1 em todos os grupos avaliados. Ainda, considerando o componente principal 2 na posição supina, o qual representou 12,04% da variação total das variáveis estudadas, observamos que este componente apresentou correlações baixas e muito baixas com a maioria dos índices de VFC, exceto BFun, AFun, 2LV% e 2UV%, que tiveram correlações altas e moderadas apenas em G51-60 a G61-70. Entretanto, as correlações entre o componente principal e a PCRus foram moderadas e altas em todos os grupos, exceto G21-30, o qual apresentou baixa correlação. Ainda, a correlação entre este componente e o comprimento de telômeros foi alta apenas em G21-30.

Adicionalmente, na posição ortostática, observamos que o componente principal 1 representou 50,84% da variação total das variáveis estudadas, apresentando correlações mais altas (moderadas e baixa) com todos os índices da VFC em G41-50 e com BFun, AFun, 2LV% e 2UV% em G51-60, em comparação às outras faixas etárias. A correlação entre este componente principal e PCRus foi moderada apenas em G51-60, enquanto o comprimento de telômero mostrou correlação moderada somente em G21-30. Por outro lado, a análise do componente principal 2, o qual representou 11,67% da variação total dos dados, mostrou que apenas o comprimento de telômeros apresentou correlações altas e moderadas em todos os grupos, sendo que o nível da correlação diminuiu com a idade. Ainda, os índices da VFC e a PCRus tiveram correlações baixas e muito baixas com o componente principal 2 na posição ortostática (Tabela 6). A classificação dos coeficientes de correlação de *Pearson* entre os componentes principais e as variáveis de desfecho foi realizada de acordo com Munro (2001).

Tabela 4. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca na posição supina dos grupos estudados.

	G21-30	G31-40	G41-50	G51-60	G61-70	p Valor
<i>Análise Linear</i>						
Média iRR (ms)	897,79±144,75	931,38±100,60	957,97±135,85	916,32±143,33	907,59±114,64	0,574
Variância iRR (ms ²)	2749,37±1877,97	1832,23±1673,73	1868,20±1321,07	1255,38±1207,39 ^a	1029,93±1139,14 ^{bd}	<0,001
BF (ms)	1150,11±1294,77	640,80±551,57	855,30±751,74	603,67±1021,86 ^a	484,59±763,77 ^{bd}	0,003
BFun (un)	52,38±23,20	51,67±16,59	61,63±21,95	59,29±28,05	65,69±26,26	0,121
AF (ms)	1066,01±920,26	621,69±685,13	601,57±632,00	328,33±309,02 ^a	162,57±150,74 ^{bcd}	<0,001
AFun (un)	46,06±23,48	46,82±15,49	37,85±22,05	39,42±27,82	33,20±26,00	0,126
<i>Análise Não Linear</i>						
0V%	16,50±14,19	17,66±9,96	21,46±12,67	27,09±16,15	28,67±13,14 ^b	0,008
1V%	42,63±6,70	46,92±5,39	45,71±5,31	45,37±6,52	47,33±5,95	0,124
2LV%	14,94±8,32	12,97±6,25	12,83±6,30	12,90±8,95	8,68±5,17	0,062
2UV%	25,93±15,07	22,44±10,90	20,01±11,46	14,64±7,87 ^a	15,31±8,22	0,012
ES	3,65±0,44	3,61±0,40	3,55±0,42	3,36±0,52	3,40±0,41	0,134
IC	1,12±0,21	1,12±0,18	1,09±0,18	0,99±0,19	1,00±0,17	0,035
ICN	0,77±0,11	0,78±0,08	0,76±0,10	0,70±0,09	0,69±0,09 ^{bc}	0,001

Valores expressos em média±desvio-padrão. AF: alta frequência em unidades absolutas; AFun: alta frequência em unidades normalizadas; BF: baixa frequência em unidades absolutas; BFun: baixa frequência em unidades normalizadas; ES: entropia de Shannon; 0V - padrão sem variação; 1V - padrão com uma variação; 2LV - padrão com 2 variações iguais; 2UV - padrão com 2 variações diferentes; IC - índice de complexidade; ICN - índice de complexidade normalizado; iRR: intervalo RR. ^ap<0,05 G21-30 x G51-60; ^bp<0,05 G21-30 x G61-70; ^cp<0,05 G31-40 x G61-70; ^dp<0,05 G41-50 x G61-70. ANOVA de uma via, *post hoc* de Tukey, ou *Kruskal-Wallis*, *post hoc* de Dunn's.

Tabela 5. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca na posição ortostática dos grupos estudados.

	G21-30	G31-40	G41-50	G51-60	G61-70	p Valor
<i>Análise Linear</i>						
Média iRR (ms)	731,42±99,78	767,51±99,76	805,28±101,56	798,95±113,54	817,47±105,75 ^b	0,024
Variância iRR (ms ²)	2062,67±1315,82	1734,93±997,56	1780,61±1233,22	1108,23±698,25	629,66±432,54 ^{bcd}	<0,001
BF (ms)	1044,48±894,71	1095,25±814,65	893,03±978,48	545,32±528,79	276,49±296,93 ^{bcd}	<0,001
BFun (un)	76,42±16,88	84,21±12,12	67,51±30,13	70,97±24,96	66,10±23,69	0,094
AF (ms)	266,50±228,16	160,67±154,08	236,63±225,80	137,38±182,60 ^a	94,95±100,50 ^b	0,007
AFun (un)	22,11±16,42	14,74±12,03	26,58±25,68	22,51±18,89	29,87±22,91	0,250
<i>Análise Não Linear</i>						
0V%	32,33±12,56	38,85±10,37	29,44±12,38	34,41±13,70	30,83±12,35	0,107
1V%	47,68±6,01	46,39±4,71	49,66±4,60	48,19±6,81	46,18±6,20	0,255
2LV%	10,56±5,34	7,78±3,78	10,54±4,99	8,27±5,09	8,54±6,07	0,180
2UV%	9,43±7,25	6,98±4,20	10,36±7,88	9,13±5,58	14,45±8,69 ^c	0,010
ES	3,38±0,32	3,20±0,27	3,44±0,37	3,28±0,39	3,42±0,39	0,136
IC	0,95±0,16	0,89±0,12	1,00±0,16	0,93±0,16	0,99±0,19	0,143
ICN	0,62±0,10	0,60±0,08	0,65±0,10	0,62±0,09	0,66±0,11	0,185

Valores expressos em média±desvio-padrão. AF: alta frequência em unidades absolutas; AFun: alta frequência em unidades normalizadas; BF: baixa frequência em unidades absolutas; BFun: baixa frequência em unidades normalizadas; ES: entropia de Shannon; 0V - padrão sem variação; 1V - padrão com uma variação; 2LV - padrão com 2 variações iguais; 2UV - padrão com 2 variações diferentes; IC - índice de complexidade; ICN - índice de complexidade normalizado; iRR: intervalo RR. ^ap<0,05 G21-30 x G51-60; ^bp<0,05 G21-30 x G61-70; ^cp<0,05 G31-40 x G61-70; ^dp<0,05 G41-50 x G61-70. ANOVA de uma via, *post hoc* de Tukey, ou Kruskal-Wallis, *post hoc* de Dunn's.

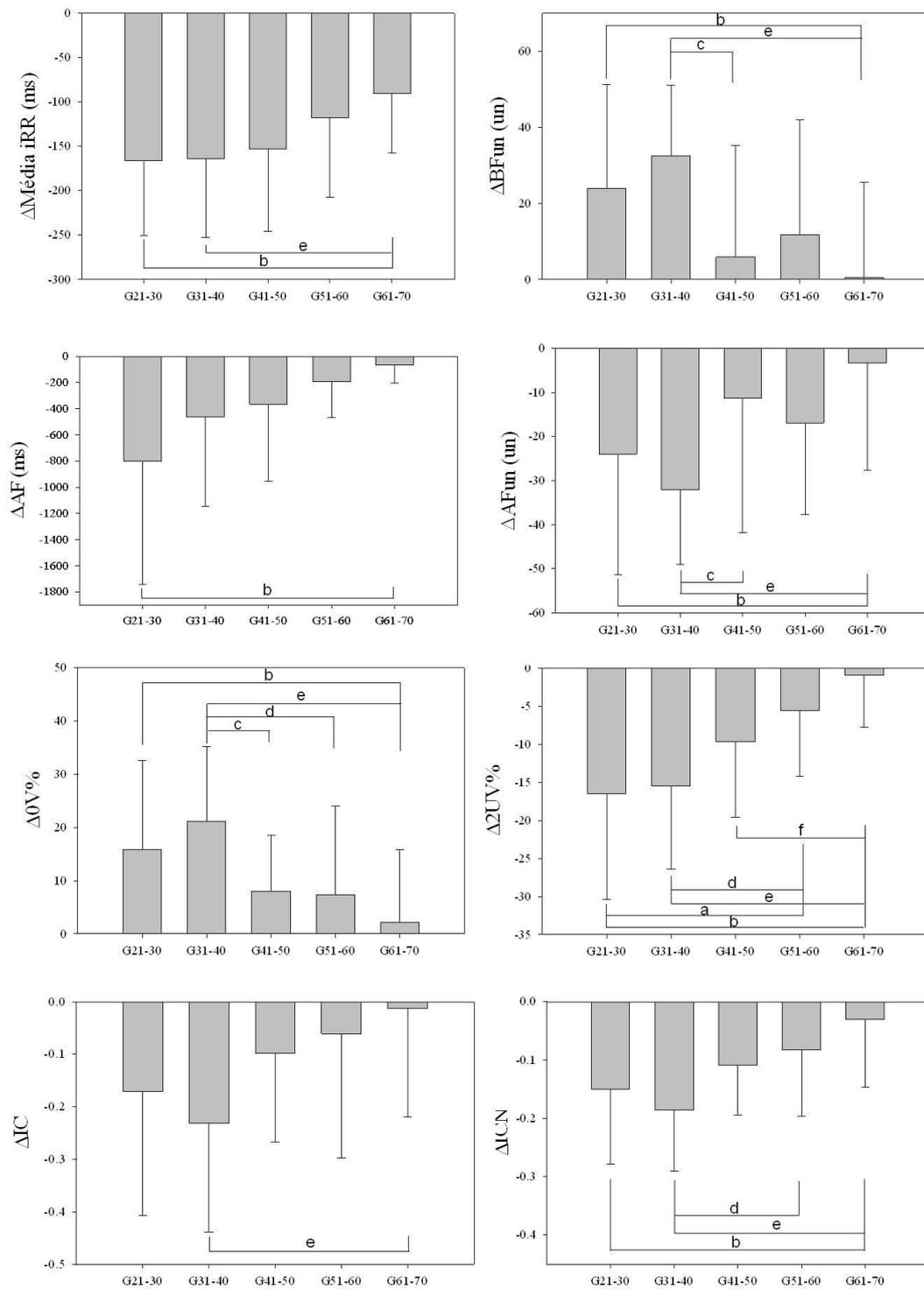


Figura 7. Índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca em resposta à mudança postural (Δ Ortostatismo-Supino) dos grupos estudados. AF: alta frequência; AFun: alta frequência em unidades normalizadas; BFun: baixa frequência em unidades normalizadas; IC: índice de complexidade; ICN: índice de complexidade normalizado; 0V: padrão sem variação; 2UV: padrão com 2 variações diferentes. ^a $p < 0,05$ 21-30 x 51-60; ^b $p < 0,05$ 21-30 x 61-70; ^c $p < 0,05$ 31-40 x 41-50; ^d $p < 0,05$ 31-40 x 51-60; ^e $p < 0,05$ 31-40 x 61-70; ^f $p < 0,05$ 41-50 x 61-70. ANOVA de uma via, *post hoc* de Tukey, ou *Kruskal-Wallis, post hoc* de Dunn's.

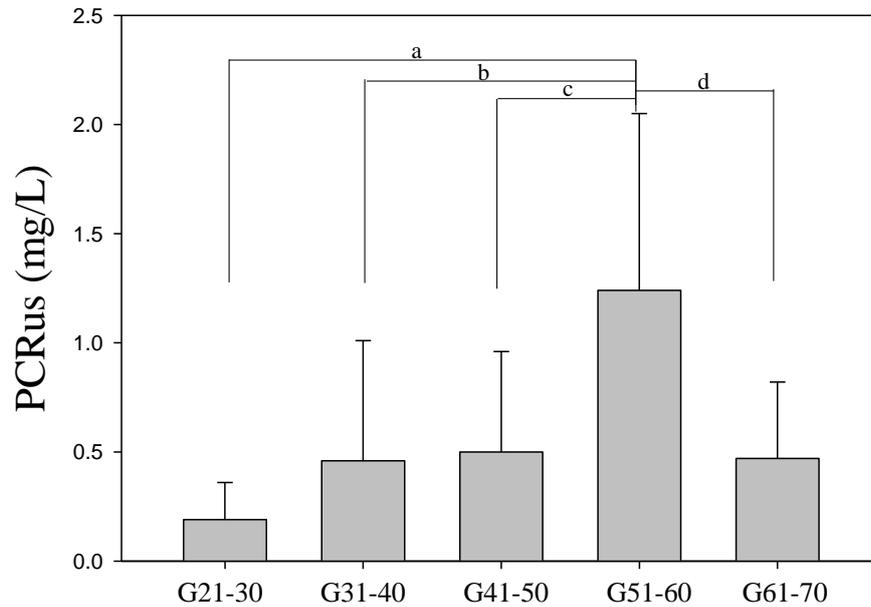


Figura 8. Proteína C-reativa ultra sensível (PCRus) das faixas etárias estudadas. ^a $p < 0,05$ G21-30 x G51-60; ^b $p < 0,05$ G31-40 x G51-60; ^c $p < 0,05$ G41-50 x G51-60; ^d $p < 0,05$ G51-60 x G61-70. Teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*, *post hoc* de *Dunn's*.

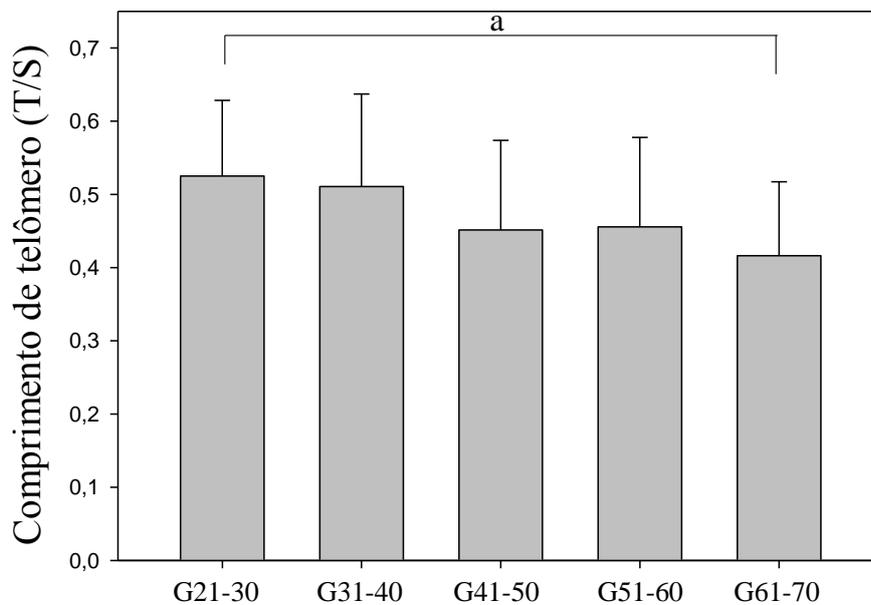


Figura 9. Média relativa do comprimento de telômero (T/S) das faixas etárias estudadas. ^a $p < 0,05$ G21-30 x 61-70. Teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*, *post hoc* de *Dunn's*.

Tabela 6. Correlação de *Pearson* entre os componentes principais e os índices lineares e não lineares da variabilidade da frequência cardíaca nas posições supina e ortostática, proteína C-reativa ultra sensível e média relativa de comprimento de telômeros.

	BFun	AF	AFun	OV%	2LV%	2UV%	ICN	IC	PCRus	Telômero (T/S)
<i>Supino</i>										
Componente 1 (54,19%)										
G21-30	-0,88	0,77	0,90	-0,92	0,31	0,79	0,83	0,88	0,22	0,11
G31-40	-0,68	0,48	0,67	-0,87	0,55	0,83	0,90	0,88	0,25	-0,12
G41-50	-0,88	0,69	0,88	-0,97	0,75	0,91	0,89	0,89	0,01	0,22
G51-60	-0,86	0,65	0,86	-0,94	0,90	0,89	0,84	0,86	0,26	0,03
G61-70	-0,91	0,61	0,91	-0,96	0,79	0,82	0,82	0,90	-0,28	-0,06
Componente 2 (12,04%)										
G21-30	-0,21	-0,37	0,18	0,06	0,36	-0,25	-0,38	-0,29	0,32	-0,76
G31-40	-0,44	-0,08	0,53	0,02	0,02	-0,09	-0,02	-0,06	0,83	-0,19
G41-50	-0,19	-0,28	0,18	0,13	0,23	-0,24	-0,21	-0,03	0,80	-0,42
G51-60	-0,71	0,14	0,72	-0,27	0,41	0,46	0,24	0,06	0,84	-0,12
G61-70	-0,54	0,38	0,55	-0,20	0,38	0,23	0,08	0,12	0,62	-0,33
<i>Ortostatismo</i>										
Componente 1 (50,84%)										
G21-30	-0,14	-0,04	0,14	-0,20	0,19	0,01	-0,04	0,02	0,44	-0,52
G31-40	-0,17	-0,06	0,25	0,03	-0,10	0,07	0,08	-0,04	0,39	0,04
G41-50	-0,51	0,41	0,52	-0,65	0,56	0,48	0,58	0,49	0,11	0,19
G51-60	-0,57	0,39	0,56	-0,36	0,47	0,47	0,37	0,27	0,53	0,12
G61-70	-0,39	0,38	0,40	-0,37	0,24	0,40	0,17	0,28	-0,11	0,19
Componente 2 (11,67%)										
G21-30	0,24	0,02	-0,23	-0,01	-0,04	-0,14	0,32	0,28	-0,29	0,81
G31-40	0,09	-0,23	-0,04	0,04	0,09	-0,04	-0,03	0,04	-0,27	0,84
G41-50	-0,10	0,30	0,10	-0,21	0,03	0,13	0,05	0,04	-0,24	0,72
G51-60	0,15	0,00	-0,15	0,10	-0,15	-0,12	-0,01	0,03	-0,10	0,68
G61-70	0,35	0,11	-0,36	0,28	0,05	-0,29	-0,22	-0,11	0,09	0,48

AF: alta frequência; AFun: alta frequência em unidades normalizadas; BFun: baixa frequência em unidades normalizadas; IC: índice de complexidade; ICN: índice de complexidade normalizado; PCRus: proteína C-reativa ultra sensível; OV: padrão sem variação; 2LV: padrão com 2 variações iguais; 2UV: padrão com 2 variações diferentes.

3.4. DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo foram: (1) na posição supina, o processo de envelhecimento levou à redução da modulação cardíaca vagal a partir da faixa etária de 51 a 60 anos, enquanto o aumento da modulação cardíaca simpática e a diminuição da complexidade da VFC ocorreram nos indivíduos com idade entre 61 e 70 anos; (2) a análise da VFC em resposta à mudança postural de supino para ortostatismo mostrou que houve diminuição da modulação cardíaca vagal e da complexidade, além de aumento da modulação cardíaca simpática, sendo que as faixas etárias mais elevadas apresentaram uma resposta menos eficiente à manobra; (3) aumento do marcador inflamatório PCRus na faixa etária entre 51 e 60 anos, apesar dos valores da proteína se encontrarem dentro dos valores de normalidade; (4) o comprimento de telômeros leucocitários foi menor nos indivíduos de 61 a 70 anos em comparação à faixa etária mais jovem; (5) na posição supina, de acordo com a análise do componente principal 1, os índices da VFC apresentaram maior participação comparados à PCRus e ao comprimento de telômeros, sugerindo que a modulação autonômica cardíaca é mais fortemente associada ao processo de envelhecimento; (6) na posição ortostática, o componente principal 1 apresentou correlação moderada com todos os índices da VFC em G41-50 e com BFun, AFun, 2LV% e 2UV% em G51-60, quando comparados às outras faixas etárias. Ainda, este componente apresentou correlação moderada com a PCRus apenas em G51-60, enquanto o comprimento de telômero mostrou correlação moderada apenas em G21-30.

3.4.1. Características dos participantes

Embora as faixas etárias mais velhas (G41-50 e G61-70) tenham apresentado maior IMC comparadas a G21-30, deve ser considerado que estes valores estão dentro dos limites de normalidade, abaixo do grau de obesidade ($> 30 \text{ Kg/m}^2$). Ainda, a fração LDL do colesterol, colesterol total, triglicérides e glicemia de jejum sofreram aumento com o avançar da idade. Importante ressaltar que o processo de envelhecimento causa modificações nos mecanismos regulatórios, podendo levar ao aumento dos níveis séricos de colesterol (BERTOLOTTI et al., 2014) e da glicemia de jejum (FULOP et al., 2003). Entretanto, é importante enfatizar que os participantes do presente estudo foram considerados saudáveis, baseando-se nas avaliações realizadas, sendo que as mudanças encontradas nos níveis de glicemia, colesterol e triglicérides são esperadas com o processo de envelhecimento. Adicionalmente, a análise de regressão linear multivariada mostrou que os dados destes exames bioquímicos sanguíneos

não influenciaram as respostas das variáveis de desfecho deste estudo (índices lineares e não lineares da VFC nas posições supina e ortostática, PCRus e comprimento de telômero). Em relação à capacidade funcional, as faixas etárias maiores (G51-60 e G61-70) apresentaram uma menor capacidade aeróbia, mensurada por VO_2 pico absoluto e relativo, comparadas aos indivíduos mais jovens. A redução do VO_2 com o envelhecimento é esperada, de acordo com Hawkins and Wiswell (2003).

3.4.2. Modulação autonômica cardíaca

A análise da VFC na posição supina mostrou que as faixas etárias G51-60 e G61-70 apresentaram menor modulação cardíaca vagal, evidenciada pelo componente espectral AF em unidades absolutas, em comparação a faixas etárias mais jovens. Ainda, o índice espectral BF em unidades absolutas, indicador das modulações cardíacas simpática e vagal simultaneamente, também foi menor nas faixas etárias mais avançadas em relação aos indivíduos mais jovens. Além disso, G61-70 apresentou menor complexidade, evidenciada pelo ICN, além de maior modulação cardíaca simpática, representada pelo índice simbólico 0V%, em relação a G21-30. Portanto, nossos resultados mostraram que, em repouso supino, o processo de envelhecimento ocasionou redução da modulação cardíaca vagal a partir da faixa etária G51-60, enquanto o aumento da modulação cardíaca simpática e a diminuição da complexidade da VFC ocorreram nos indivíduos com maior idade, G61-70.

Dessa maneira, nossos achados corroboram com outros estudos, os quais mostraram que o envelhecimento causa redução da VFC, avaliada por técnicas lineares (BIGGER et al., 1992; CATAI et al., 2002; LAKATTA e LEVY, 2003; LIPSITZ et al., 1990; MELO et al., 2005; ZHANG, 2007). Abhishekh et al. (2013) avaliaram a VFC em repouso supino de sujeitos saudáveis de 16 a 60 anos, por meio da análise espectral (técnica linear). Foi observado, por meio da correlação entre os índices e a idade, uma redução do controle autonômico do coração com o envelhecimento, caracterizada por predominância da modulação cardíaca simpática, representada por BFun e BF/AF, bem como diminuição da modulação cardíaca vagal, evidenciada por AFun.

Além disso, Voss et al. (2012) estudaram a dependência da idade sobre a VFC de indivíduos saudáveis de 25 a 74 anos, divididos em cinco diferentes grupos etários, por meio de técnicas lineares e não lineares. Os autores relataram que quase todos os índices da VFC avaliados apresentaram dependência da idade nas cinco décadas investigadas, ocorrendo redução da modulação cardíaca vagal e aumento da influência da modulação cardíaca simpática com o aumento da idade, além de uma diminuição geral da complexidade e da

VFC. No entanto, diferentemente do presente estudo, Voss et al. (2012) não identificaram especificamente em qual década da vida estas alterações se iniciam.

A análise da variação (Δ) dos índices da VFC em resposta à mudança postural de supino para ortostatismo mostrou haver diminuições da média dos iRR e da modulação cardíaca vagal (índices AF, AFun e 2UV%), bem como da complexidade da série de iRR (IC e ICN), além de aumento da modulação cardíaca simpática (índices BFun e 0V%). Foi constatado que as faixas etárias mais elevadas apresentaram uma variação menor em relação aos indivíduos mais jovens, mostrando uma menor capacidade dos indivíduos com maior idade em responder à manobra.

Barantke et al. (2008) estudaram a modulação autonômica cardíaca por meio da análise espectral, bem como a sensibilidade barorreflexa em resposta à mudança postural de supino para ortostatismo em indivíduos saudáveis de 10 a 88 anos. Os autores observaram um contínuo declínio do barorreflexo, bem como dos índices espectrais de AF e BF conforme o aumento da idade. Ainda, foi relatada uma diminuição contínua relacionada à idade na resposta do sistema nervoso autonômico à manobra postural, observando-se que os indivíduos mais idosos apresentaram ajustes prejudicados da modulação autonômica cardíaca em relação aos mais jovens, concordando com os achados do presente estudo. Barantke et al. (2008) também indicam que a redução da modulação cardíaca vagal seguida à mudança postural é um dos principais mecanismos regulatórios para a manutenção na postura ortostática em indivíduos mais jovens, corroborando com nossos resultados. Portanto, Barantke et al. (2008) afirmam que o menor grau de controle autonômico associado à resposta atenuada à manobra postural podem explicar, em parte, a baixa tolerância ortostática dos indivíduos idosos.

Da mesma maneira, Fagard et al. (1999) também relataram redução da modulação cardíaca vagal decorrente da mudança postural de supino para ortostatismo em indivíduos saudáveis de 25 a 89 anos, havendo, ainda, atenuação da resposta à manobra com o avanço da idade. Adicionalmente, concordando com nossos achados, a estimulação da modulação cardíaca simpática em decorrência à realização da mudança postural foi observada em outros estudos com indivíduos saudáveis (FAGARD et al., 1999; MONTANO et al., 1994; PORTA et al., 2007a).

3.4.3. Marcador inflamatório, comprimento de telômero e modulação autonômica cardíaca: novas perspectivas

O marcador inflamatório PCRus foi maior em G51-60 em comparação às faixas etárias mais jovens, voltando a diminuir no grupo seguinte (G61-70). É importante ressaltar que

todos os indivíduos avaliados no presente estudo apresentaram valores desta proteína inflamatória dentro da faixa de normalidade, ou seja, 3,0 mg/L (POTSCH et al., 2006), uma vez que a presença de valores superiores foi considerada como critério de exclusão da pesquisa.

Apesar dos mecanismos de controle da PCRus não serem completamente conhecidos, alguns estudos sugerem que mudanças na modulação autonômica cardíaca possam levar a alterações no perfil inflamatório (BOROVIKOVA et al., 2000; TRACEY, 2007). Assim, o sistema nervoso autonômico atuaria por meio da via anti-inflamatória colinérgica, através da qual as citocinas produzidas no sítio inflamatório estimulam as fibras aferentes do nervo vago. Isso leva à ativação dos núcleos motores dorsais na medula e à estimulação das fibras eferentes do nervo vago, liberando acetilcolina nos sítios da inflamação, o que inibe a produção de macrófagos derivados de citocinas inflamatórias, conhecidamente indutoras da produção de PCR. Assim, um importante efeito do aumento do tônus parassimpático pode ser a diminuição da produção da PCR, de acordo com Tracey (2007). Dessa maneira, foi observado, no presente estudo, que tanto o decaimento da modulação cardíaca vagal quanto o aumento dos níveis séricos do marcador inflamatório PCRus ocorreram na faixa etária G51-60. Considerando Tracey (2007), nossos achados podem ser explicados por meio da via anti-inflamatória colinérgica, sugerindo que a redução da modulação autonômica parassimpática tenha sido responsável pelas alterações nos níveis séricos do marcador inflamatório PCRus nos indivíduos com idade entre 51 e 60 anos.

Por outro lado, Lampert et al. (2008), ao avaliarem gêmeos de meia-idade e observando que a diminuição da VFC está relacionada a altos índices de PCR, sugeriram que as mudanças na modulação autonômica levariam ao processo inflamatório, visto que neste estudo foram analisados tanto a noradrenalina presente na urina quanto os índices da VFC. Foi observado que ambos os fatores foram associados com a inflamação, sendo que a VFC se mostrou um preditor mais importante, sugerindo que a desregulação autonômica cardíaca tenha sido responsável pelos achados do estudo. Sabendo-se que a estimulação simpática inibe a modulação vagal, os autores explicam que é possível que a relação encontrada entre modulação autonômica cardíaca e PCR tenha ocorrido devido ao fato da baixa VFC ter sido um marcador para a maior atividade simpática, sendo, esta, pró-inflamatória. No entanto, nossos resultados são discordantes em relação aos achados de Lampert et al. (2008), uma vez que, no presente estudo, as alterações na modulação cardíaca simpática ocorreram apenas na faixa etária de 61 a 70 anos, posteriormente às modificações na modulação cardíaca vagal, as quais se iniciaram na década de 51 a 60 anos.

Ainda, Su et al. (2009) relataram que, em gêmeos saudáveis de meia-idade (47 a 60 anos), os níveis plasmáticos de PCR foram significativamente associados aos índices espectrais da VFC, por meio do Holter de 24 horas, incluindo os componentes de ultra baixa frequência, muito baixa frequência e baixa frequência, exceto alta frequência. Considerando-se todos os índices da VFC e os níveis de PCR, as correlações encontradas para os gêmeos monozigóticos foram consistentemente mais altas em comparação aos gêmeos dizigóticos, indicando haver influência genética sobre estas variáveis. Su et al. (2009) ainda relatam que, pelo fato do estudo ter sido transversal, o discernimento de qualquer relação causal entre disfunção autonômica e inflamação ficou limitado. Entretanto, no presente estudo, como avaliamos indivíduos em diferentes fases da vida, ou seja, em diferentes faixas etárias, podemos fazer inferências da sequência de acontecimento das alterações provocadas pelo processo natural de envelhecimento.

Além disso, sabe-se que o estudo dos sistemas inflamatório e autonômico tem importante valor prognóstico. De acordo com Sajadieh et al. (2006), a interação entre PCR e índices da VFC é capaz de prever morte e infarto agudo do miocárdio em indivíduos de meia-idade e idosos. Ainda, associação entre baixa VFC e processo inflamatório foram relatados em estudos com diferentes populações. Känel et al. (2011) observaram que um reduzido controle autonômico cardíaco está associado a um aumento da inflamação sistêmica em pacientes com doença da artéria coronária estável.

Com relação à média relativa do comprimento de telômeros leucocitários, os indivíduos com idade entre 61 e 70 anos apresentaram maior encurtamento em comparação aos indivíduos mais jovens de 21 a 30 anos, mostrando que na faixa etária mais avançada o grau de envelhecimento celular foi maior. O aumento dos níveis séricos de PCRus ocorrido na década de 51 a 60 anos (embora os valores deste marcador inflamatório tenham se mantido dentro da faixa de normalidade), pode ter contribuído para o encurtamento de telômeros, considerando-se que a presença de substâncias inflamatórias podem influenciar o comprimento das estruturas teloméricas. Ainda, a redução da modulação vagal cardíaca observada na faixa etária de 51 a 60 anos também pode ter contribuído para a diminuição do comprimento de telômeros encontrado na década posterior, uma vez que alterações na modulação vagal estão relacionadas aos marcadores inflamatórios, por meio da via anti-inflamatória colinérgica, descrita por Borovikova et al. (2000) e Tracey (2007).

Para nosso conhecimento, até o momento, não existem estudos na literatura mostrando relações entre a medida de telômeros, PCRus e modulação autonômica cardíaca. Entretanto, Aubert e Lansdorp (2008) relatam uma redução no comprimento de telômeros conforme o

aumento da idade, enquanto Fitzpatrick et al. (2011) reportaram que indivíduos com idade superior a 65 anos com telômeros mais curtos apresentaram uma maior probabilidade de morte (60%) em comparação àqueles com telômeros mais longos. Ainda, Kimura et al. (2008) relataram maior probabilidade de morte em gêmeos idosos com menor comprimento de telômero, indicando que o encurtamento telomérico é desvantajoso para a sobrevida. Adicionalmente, Ehrlenbach et al. (2009), em estudo longitudinal, observaram que os indivíduos que morreram em um período de 10 anos apresentavam telômeros significativamente mais curtos em relação aos sobreviventes. Adicionalmente, telômeros de tamanhos reduzidos têm sido associados com diversas patologias (CALADO e YOUNG, 2012).

Ainda, alguns trabalhos exploram associações entre a medida telomérica e alguns eventos cardiovasculares. Farzaneh-Far et al. (2008) reportaram o valor prognóstico da medida telomérica, relatando que um reduzido comprimento de telômero leucocitário está associado à mortalidade em pacientes com doença da artéria coronária estável. Ainda, Dei Cas et al. (2013) observaram que o comprimento do telômero leucocitário está associado a fatores de risco para doenças cardiovasculares, uma vez que a medida telomérica apresentou relação inversa com o histórico familiar para este tipo de doença, em adultos jovens saudáveis. Outro estudo, realizado por Ye et al. (2013), evidenciou que um menor comprimento telomérico está relacionado a uma maior incidência de eventos de doenças coronarianas. Com base nesses estudos, torna-se evidente a importância de se estudar a relação entre modulação autonômica cardíaca e comprimento de telômero, a fim de identificar em qual faixa etária ocorrem as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento, permitindo ações preventivas na tentativa de minimizar os efeitos da idade.

A análise por componentes principais, considerando PCRus, medida relativa de comprimento de telômero e índices lineares e não lineares da VFC, mostrou o nível de importância destas variáveis nos grupos estudados. Na posição supina, a análise de relação entre o componente principal 1, que representou a maior porcentagem de variação dos dados, mostrou que as correlações mais altas foram encontradas com os índices da VFC, em todas as faixas etárias avaliadas. Baseando-se nestes achados, observamos que a modulação autonômica cardíaca apresentou maior participação na posição supina, comparada a PCRus e comprimento de telômeros, sugerindo que a VFC é mais fortemente associada ao processo de envelhecimento do que as outras variáveis. Por outro lado, na posição supina, tanto a PCRus e o comprimento de telômeros apresentaram correlações mais altas apenas com o componente principal 2, o qual representou menor variação dos dados, indicando que estas variáveis

tiveram uma menor contribuição para o estudo do envelhecimento, comparadas aos índices da VFC. Além disso, PCRus apresentou correlações altas em todas as faixas etárias, exceto G21-30, uma vez que este grupo mostrou alta correlação entre o componente 2 e o comprimento de telômeros. Assim, estes resultados indicam que na faixa etária mais jovem, o comprimento de telômeros teve uma maior contribuição em relação ao marcador inflamatório, diferentemente do que ocorreu nos grupos mais velhos, os quais apresentaram uma maior relação com a PCRus. A respeito da relação entre o componente 2 e a VFC na posição supina, foram encontradas correlações mais altas com BFun, AFun, 2LV% e 2UV% apenas nos grupos de maior idade (G51-60 e G61-70). Isso sugere que, no componente 2, a modulação autonômica cardíaca apresentou maior contribuição nos indivíduos com idade mais avançada.

Além disso, a análise por componentes principais na posição ortostática mostrou uma resposta diferente em relação à posição supina. Foi observado que o componente de maior representação (componente 1), representante da maior porcentagem de variação dos dados, apresentou correlações mais altas com os índices da VFC apenas em G41-50 e G51-60, bem como com a PCRus somente em G51-60, e com comprimento de telômeros em G21-30. É interessante observar que o marcador inflamatório e o comprimento de telômeros tiveram maiores relações com este componente principal nas faixas etárias nas quais cada uma destas duas variáveis apresentaram maiores valores absolutos (G51-60 e G21-30, respectivamente), em comparação aos outros grupos, como demonstrado nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

Com base nos resultados deste estudo, verificamos, por meio da análise univariada, que as primeiras alterações provocadas pelo processo de envelhecimento foram a diminuição da modulação vagal e o aumento dos níveis séricos de PCRus, ambas na faixa etária de 51 a 60 anos. Este achado, somado ao fato de que a VFC, na posição supina, foi a variável que apresentou maior contribuição, de acordo com a análise multivariada por componentes principais, podemos inferir que a diminuição da modulação vagal tenha levado às alterações do perfil inflamatório, avaliado pela PCRus, como descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. Assim, com a diminuição da modulação vagal, o efeito anti-inflamatório da mesma foi reduzido, havendo o aumento da proteína inflamatória.

Dessa maneira, consideramos que a análise multivariada por componentes principais possibilitou definir que a primeira variável a sofrer o efeito do envelhecimento foi a modulação cardíaca vagal, seguida pela PCRus, na faixa etária de 51 a 60 anos, sendo que na década seguinte, de 61 a 70 anos, ocorrem alterações da modulação cardíaca simpática e da complexidade da VFC, bem como encurtamento dos telômeros.

Considerando os achados do presente estudo, podemos observar a importância de ações preventivas em faixas etárias anteriores ao início das alterações provocadas pelo processo de envelhecimento, especialmente na década de 41 a 50 anos, na tentativa de minimizar os efeitos naturais da senescência. Dessa maneira, o treinamento físico tem se mostrado importante na manutenção do comprimento de telômeros (ØSTHUS et al., 2012), níveis séricos de PCRus (STEWART et al., 2007), bem como melhora da VFC, aumentando a modulação cardíaca vagal (ALBINET et al., 2010).

É importante enfatizar que este é um estudo transversal. Entretanto, como avaliamos uma ampla faixa etária (indivíduos em diferentes fases da vida, com idade entre 21 e 70 anos), podemos fazer inferências a respeito das alterações provocadas pelo processo de envelhecimento. Todavia, o desenvolvimento de um modelo longitudinal, avaliando a modulação autonômica cardíaca, PCRus e comprimento de telômeros durante o processo de envelhecimento, poderia fornecer contribuições adicionais a respeito das interações entre estas variáveis. Ainda, a análise de outros tipos de marcadores inflamatórios, como as citocinas pró-inflamatórias interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF α), permitiriam um estudo mais abrangente a respeito do perfil inflamatório.

3.5. CONCLUSÕES

Com base nos achados do presente estudo, verificou-se que as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento na VFC se iniciam na década de 51 a 60 anos, com redução da modulação cardíaca vagal, enquanto o aumento da modulação cardíaca simpática e a diminuição da complexidade ocorrem de 61 a 70 anos. Na faixa etária de 51 a 60 anos, além da diminuição da modulação vagal, ocorre um aumento dos níveis séricos de PCRus, ao passo que o encurtamento dos telômeros leucocitários se torna significativo na década de 61 a 70 anos. Considerando que os índices da VFC na posição supina apresentam uma associação mais forte com o processo de envelhecimento, em comparação ao marcador inflamatório e ao comprimento de telômeros, podemos concluir que, na faixa etária de 51 a 60 anos, a diminuição da modulação cardíaca vagal possa ter influenciado o aumento dos níveis séricos de PCRus, como descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. Ainda, a redução da modulação cardíaca vagal e o aumento da PCRus podem ter contribuído para o encurtamento de telômeros, identificado na década seguinte de 61 a 70 anos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS

Os estudos apresentados trouxeram importantes contribuições com relação ao estudo da modulação autonômica cardíaca no processo de envelhecimento, bem como suas relações com a TRH, a PCRus e o comprimento de telômeros. Podemos considerar que:

- O uso da TRH não se mostrou vantajoso para a VFC, uma vez que as mulheres submetidas à terapia apresentaram menor modulação cardíaca vagal e maior modulação cardíaca simpática, avaliadas pela análise espectral, em comparação às mulheres que não faziam uso de hormônios. Adicionalmente, as mulheres submetidas à TRH apresentaram controle autonômico cardíaco menos favorável, considerando-se que não apresentaram um limiar de modulação parassimpática suficiente para tornar aparente sua relação com índices de complexidade.
- Os efeitos do processo de envelhecimento na VFC se iniciaram a partir da faixa etária de 51 a 60 anos, com redução da modulação cardíaca vagal, mesma década em que ocorreu alterações do marcador inflamatório PCRus. Este achado, somado ao fato dos índices da VFC apresentarem uma maior contribuição para o processo de envelhecimento, conforme avaliado pela análise multivariada por componentes principais, sugere que a alteração na modulação cardíaca vagal tenha influenciado o aumento da proteína inflamatória, como descrito pela via anti-inflamatória colinérgica. Já o encurtamento dos telômeros se tornou significativo na década de 61 a 70 anos, podendo ter sido decorrente das alterações na modulação autonômica cardíaca e no perfil inflamatório, evidentes na faixa etária anterior.

Como desdobramentos dos achados do presente trabalho, além dos dois estudos apresentados nesta tese, serão elaborados mais dois manuscritos:

- O primeiro deles terá como objetivo avaliar a relação existente entre os índices da VFC e os marcadores inflamatórios PCRus, TNF α e IL-6. Para isso, incluiremos a análise de outros marcadores inflamatórios (TNF α e IL-6), na tentativa de melhor esclarecer as relações existentes entre o perfil inflamatório e a modulação autonômica cardíaca durante o processo de envelhecimento em indivíduos saudáveis. Ressalta-se que, até o momento, já temos processados os dados de TNF α dos 110 participantes do estudo II. Adicionalmente, temos material disponível para analisarmos a IL-6, citocina importante para o estudo do envelhecimento. Assim, a análise conjunta da PCRus, TNF α e IL-6 proporcionarão uma abordagem mais completa do perfil inflamatório.

- Ainda, o próximo estudo terá o objetivo de comparar a modulação autonômica cardíaca de indivíduos saudáveis com valores de PCRus dentro do limite de normalidade àqueles que apresentaram níveis séricos desta proteína inflamatória acima dos valores considerados como normais (e que, por este motivo, foram excluídos do estudo II), com o intuito de verificar se a alteração nesta variável tem influência na VFC em supino e em resposta à mudança postural.

5. ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO

5. ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO

5.1. Produção técnico-científica relacionada ao projeto de Doutorado

5.1.1. Trabalhos publicados em anais de eventos (resumos)

1. Natália M. Perseguini, Anielle M. Takahashi, Juliana C. Milan, José R. Rebelatto, Ester Silva, Audrey Borghi-Silva, Alberto Porta, Nicola Montano, Aparecida M. Catai. Influência do gênero nas análises espectral, simbólica e complexidade da VFC em resposta à mudança postural de idosos saudáveis. XXXIII Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 22 (supl B), p. 260, 2012.

2. Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Patrícia R. Santos, Vinicius Minatel, Anielle C.M. Takahashi, Vandeni C. Kunz, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Efeito do envelhecimento sobre a modulação autonômica cardíaca em resposta à mudança postural de jovens e idosos. XXVII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), resumo 02.058, 2012.

3. Natália M. Perseguini, Anielle C.M. Takahashi, Ester Silva, Audrey Borghi-Silva, José R. Rebelatto, Alberto Porta, Nicola Montano, Aparecida M. Catai. Effects of hormone replacement therapy and age on heart rate variability in healthy women. The Gerontological Society of America, 65th Annual Scientific Meeting. The Gerontologist, p. 369, 2012.

4. Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Anielle C.M. Takahashi, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Efeitos do envelhecimento e da postura na análise não linear da variabilidade da frequência cardíaca. XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, supl B, v. 23, p. 262, 2013.

5.1.2. Artigo completo publicado em periódico

1. Natália M. Perseguini, Anielle C.M. Takahashi, Juliana C. Milan, Patrícia R. Santos, Valéria F.C. Neves, Audrey Borghi-Silva, Ester da Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Effect of hormone replacement therapy on cardiac autonomic modulation. Clin Auton Res, v. 24, p. 63-70, 2014. doi: 10.1007/s10286-014-0226-1.

5.2. Produção técnico-científica não vinculada ao projeto de Doutorado

5.2.1. Trabalhos publicados em anais de eventos (resumos)

1. Patrícia R. Santos, Natália M. Perseguini, Victor A.C. Fiorelli, Paulo R.V. Carvalho, Ester Silva, Audrey Borghi-Silva, Aparecida M. Catai. Análise não linear da variabilidade da frequência cardíaca na mudança postural de idosos: comparação entre gêneros. XIX Congresso Brasileiro de Fisioterapia. Fisioterapia e Pesquisa, p. 417, 2011.
2. Patrícia R. Santos, Aparecida M. Catai (O), Natália M. Perseguini, Paulo R.V. Carvalho, Audrey Borghi-Silva, Ester Silva, Anielle C.M. Takahashi. Comparação da variabilidade da frequência cardíaca de idosos em diferentes posturas: análise linear X análise não linear. XIX Congresso de Iniciação Científica da UFSCar - Anais de Eventos da UFSCar, p. 279, 2011.
3. Ana C.S. Rebelo, Thomas Beltrame, Patrícia R. Santos, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Marlus Karsten, Vinicius Minatel, Anielle C.M. Takahashi, Audrey Borghi-Silva, Aparecida M. Catai. Influência da idade sobre a dinâmica da frequência cardíaca de recuperação do teste cardiopulmonar incremental. XXXIII Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 22 (supl B), p. 207, 2012.
4. Patrícia R. Santos, Aparecida M. Catai (O), Natália M. Perseguini, Anielle C.M. Takahashi, Juliana C. Milan, Audrey Borghi-Silva. Análise não linear da variabilidade da frequência cardíaca de mulheres jovens e idosas. XX Congresso de Iniciação Científica da UFSCar - Anais de Eventos da UFSCar, p. 249, 2013.
5. Aparecida M. Catai, Anielle C.M. Takahashi, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Tito Bassani, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta. Efeitos do envelhecimento na análise de acoplamento entre as variabilidades da pressão arterial e frequência cardíaca. XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 23 (supl B), p. 262, 2013.
6. Juliana C. Milan, Natália M. Perseguini, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Anielle C.M. Takahashi, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Relação entre complexidade e índices simbólicos da variabilidade da frequência cardíaca de

saudáveis de diferentes faixas etárias. XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 23 (supl B), p. 270, 2013.

7. Viviane Castello-Simões, Vinicius Minatel, Marlus Karsten, Rodrigo P. Simões, Laura M.T. Neves, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Isabela A.V. Aniceto, Audrey Borghi-Silva, Aparecida M. Catai. Potência ventilatória e circulatória durante o teste de exercício cardiopulmonar: caracterização em homens com doença arterial coronariana. XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 23 (supl B), p. 217, 2013.

8. Vinicius Minatel, Anielle C.M. Takahashi, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Viviane Castello-Simões, Ellen C. Gomes, Audrey Borghi-Silva, Aparecida M. Catai. Efeito do envelhecimento sobre as respostas cardiovasculares obtidas durante a medida da pressão expiratória máxima estática. XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 23 (supl B), p. 261, 2013.

9. Vinicius Minatel, Anielle C.M. Takahashi, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Viviane Castello-Simões, Ellen C. Gomes, Audrey Borghi-Silva, Aparecida M. Catai. Analysis of cardiovascular responses during Valsalva maneuver and maximal expiratory pressure in healthy men. International Society for Autonomic Neuroscience. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, v. 177, p. 298, 2013.

10. Soraia P. Jürgensen, Alana M.F.G. Bastos, Vanessa S. Pereira, Grasiéla N. Correia, Natália M. Perseguini, Aparecida M. Catai, Audrey Borghi-Silva, Patricia Driusso. Efeitos da contração dos músculos do assoalho pélvico sobre a resposta da frequência cardíaca em mulheres acima de 40 anos. XX Congresso Brasileiro de Fisioterapia, 2013.

11. Ellen C. Gomes, Vinicius Minatel, Amanda T. Shimojo, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Cristina O. Francisco, Anielle C.M. Takahashi, Aparecida M. Catai. O tempo de recuperação da frequência cardíaca após a manobra de Valsalva pode detectar distúrbios do sistema nervoso autônomo. XXXV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 24 (supl B), p. 279, 2014.

12. Patrícia R. Santos, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Anielle C.M. Takahashi, Audrey Borghi-Silva, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. Relação entre DFA espectral e índices espectrais, simbólicos e de complexidade da variabilidade da

frequência cardíaca. XXXV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, v. 24 (supl B), p. 225, 2014.

5.2.2. Trabalhos aceitos para apresentação em congresso (resumos estendidos)

1. Aparecida M. Catai, Anielle C.M. Takahashi, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Tito Bassani, Vlasta Bari, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta. Baroreflex response to orthostatic challenge: effect of aging. Artigo aceito para apresentação no evento 8th Conference of the European Study Group on Cardiovascular Oscillations, (ESGCO), a ser realizado em Trento, Itália, de 25 a 28 de maio de 2014.

2. Aparecida M. Catai, Anielle C.M. Takahashi, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Andréa Marchi, Tito Bassani, Vlasta Bari, Audrey Borghi-Silva, Nicola Montano, Alberto Porta. Short-term complexity of cardiovascular oscillations during orthostatic change in aging. Artigo aceito para apresentação no evento 8th Conference of the European Study Group on Cardiovascular Oscillations, (ESGCO), a ser realizado em Trento, Itália, de 25 a 28 de maio de 2014.

5.2.3. Artigo completo publicado em periódico

1. Alberto Porta, Luca Faes, Vlasta Bari, Andrea Marchi, Tito Bassani, Giandomenico Nollo, Natália M. Perseguini, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Audrey Borghi-Silva, Anielle C.M. Takahashi, Aparecida M. Catai. Effect of age on complexity and causality of the cardiovascular control: comparison between model-based and model-free approaches. Plos One, v. 9, p. e89463. doi:10.1371/journal.pone.0089463.

5.3. Outras Atividades

1. Co-orientação de projeto de iniciação científica, intitulado “Análise não linear da variabilidade da frequência cardíaca de mulheres jovens e idosas”, desenvolvido pela aluna Patrícia Rehder dos Santos, com bolsa PIBIC-CNPq/UFSCar, sob orientação da Profa. Dra. Aparecida M. Catai.

2. Participação como co-autora do resumo intitulado “Potência ventilatória e circulatória durante o teste de exercício cardiopulmonar: caracterização em homens com doença arterial coronariana”, premiado em 3º Lugar na Sessão de Tema Livre (modalidade oral) do Departamento de Fisioterapia do XXXIV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, em 2013.

2. Participação como co-autora do resumo intitulado “O tempo de recuperação da frequência cardíaca após a manobra de Valsalva pode detectar distúrbios do sistema nervoso autônomo”, premiado em 1º Lugar na Sessão de Tema Livre (modalidade pôster) do Departamento de Fisioterapia do XXXV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, em 2014.

REFERÊNCIAS

- ABHISHEKH, dH. A. et al. Influence of age and gender on autonomic regulation of heart. **J Clin Monit Comput**, v. 27, p. 259-264, 2013.
- ADAMS, M. R. et al. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17-beta estradiol in ovariectomized monkeys. Lack of an effect of added progesterone. **Arteriosclerosis**, v. 10, p. 1051-1057, 1990.
- AKSELROD, S. et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**, v. 213, p. 220-222, 1981.
- AKSELROD, S. et al. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. **Am J Physiol**, v. 249, p. H867-H875, 1985.
- ALBINET, C. T. et al. Increased heart rate variability and executive performance after aerobic training in the elderly. **Eur J Appl Physiol**, v. 109, p. 617-624, 2010.
- ALVAREZ-RODRÍGUEZ, L. et al. Aging is associated with circulating cytokine dysregulation. **Cell Immunol.**, v. 273, p. 124-132, 2012.
- AUBERT, G.; LANSDORP, P. M. Telomeres and aging. **Physiol Rev.**, v. 88, p. 557-579, 2008.
- BARANTKE, M. et al. Effects of gender and aging on differential autonomic responses to orthostatic maneuvers. **J Cardiovasc Electrophysiol**, v. 19, p. 1296-1303, 2008.
- BARCELÓ, A. et al. Telomere shortening in sleep apnea syndrome. **Respir Med**, v. 104, p. 1225-1229, 2010.
- BERTOLOTTI, M. C. et al. Age-associated alterations in cholesterol homeostasis: evidence from a cross-sectional study in a northern Italy population. **Clinical Interventions in Aging**, v. 9, p. 425-432, 2014.
- BIGGER, J. T. Jr. et al. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. **Circulation**, v. 85, p. 164-171, 1992.
- BORGHI-SILVA, A. et al. Aerobic exercise training improves autonomic nervous control in patients with COPD. **Respir Med**, v. 103, n. 10, p. 1503-1510, 2009.
- BORGHI-SILVA, A. et al. Noninvasive ventilation acutely modifies heart rate variability in chronic obstructive pulmonary disease patients. **Respir Med**, v. 102, n. 8, p. 1117-1123, 2008.
- BOROVIKOVA, L. V. et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, v. 405, p. 458-462, 2000.
- BORTOLOTTO, L. A. et al. The aging process modifies the distensibility of elastic but not muscular arteries. **Hypertension**, v. 34, p. 889-892, 1999.
- BUCKWALTER, J. A. Advancing the Science and art of orthopaedics. **J Bone Joint Surg Am**, v.82, p. 1782-1803, 2000.

CALADO, R.; YOUNG, N. Telomeres in disease. **F1000 Med Rep**, v. 4, p. 8, 2012.

CATAI, A. M. et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, p. 741-752, 2002.

CAWTHON, R. M. Telomere measurement by quantitative PCR. **Nucleic Acids Res**, v. 30, p. e47, 2002.

CHRIST, M.; SEYFFART, K.; WEHLING, M. Attenuation of heart-rate variability in postmenopausal women on progestin-containing hormone replacement therapy. **The Lancet**, v. 353, p.1939-1940, 1999.

DAI, D. F. et al. Cardiac Aging: From molecular mechanisms to significance in human health and disease. **Antioxid Redox Signal**, v.16, p. 1492-1526, 2012.

DE ANGELIS, K.; SANTOS, M. S. B.; IRIGOYEN, M. Sistema nervoso autônomo e doença cardiovascular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v.3, p. 01-07, 2004.

DEI CAS, A. et al. Lower endothelial progenitor cell number, family history of cardiovascular disease and reduced HDL-cholesterol levels are associated with shorter leukocyte telomere length in healthy young adults. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 23, p. 272-278, 2013.

DE MEERSMAN, R. E. et al. Estrogen replacement, vascular distensibility, and blood pressures in postmenopausal women. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 274, p. H1539-H1544, 1998.

EHRLLENBACH, S. et al. Influences on the reduction of relative telomere length over 10 years in the population-based Bruneck Study: introduction of a well-controlled high-throughput assay. **Int J Epidemiol**, v. 38, p. 1725-1734, 2009.

EPEL, E. S. et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, p. 17312-17315, 2004.

FAGARD, R. H.; PARDAENS, K.; STAESSEN, J. A. Influence of demographic, anthropometric and lifestyle characteristics on heart rate and its variability in the population. **J Hypertens**, v. 17, p. 1589-1599, 1999.

FARZANEH-FAR, R. et al. Prognostic value of leukocyte telomere length in patients with stable coronary artery disease: Data from the Heart and Soul Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 28, p. 1379-1384, 2008.

FAUVEL, J. P. et al. Aging process on spectrally determined spontaneous baroreflex sensitivity: A 5-year prospective study. **Hypertension**, v. 50, p. 543-546, 2007.

FERNANDES, E. O. et al. Hormone replacement therapy does not affect the 24-hour heart rate variability in postmenopausal women: Results of a randomized, placebo-controlled trial with two regimens. **Pacing Clin Electrophysiol**, v. 28, p. S172-S177, 2005.

FITZPATRICK, A. L. et al. Leukocyte telomere length and mortality in the Cardiovascular Health Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 66A, p. 421-429, 2011.

- FLEG, J. L.; STRAIT, J. Age-associated changes in cardiovascular structure and function: a fertile milieu for future disease. **Heart fail rev**, v.17, p. 545-554, 2012.
- FLETCHER, S. W.; COLDITZ, G. A. Failure of estrogen plus progestin therapy for prevention. **JAMA**, v. 288, p. 366-368, 2002.
- FULOP, T.; LARBI, A.; DOUZIECH, N. Insulin receptor and ageing, **Pathol Biol**, v. 51, p. 574-580, 2003.
- FULOP, T. et al. Cytokine receptor signalling and aging. **Mech Ageing Dev.**, v. 127, p. 526-537, 2006.
- FUSTER, J. J.; ANDRÉS, V. Telomere Biology and Cardiovascular Disease. **Circ Res**, v. 99, p. 1167-1180, 2006.
- GÖKÇE, M. et al. Long term effects of hormone replacement therapy on heart rate variability, QT interval, QT dispersion and frequencies of arrhythmia. **Int J Cardiol**, v. 99, p. 373-379, 2005.
- GUZZETTI, S. et al. Symbolic dynamics of heart rate variability: a probe to investigate cardiac autonomic modulation. **Circulation**, v. 112, p. 465-470, 2005.
- HAENSEL, A. et al. The relationship between heart rate variability and inflammatory markers in cardiovascular diseases. **Psychoneuroendocrinology**, v. 33, n. 10, p. 1305-1312, 2008.
- HARLEY, C. B.; FUTCHER, A. B.; GREIDER, C. W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. **Nature**, v. 345, p. 458-460, 1990.
- HAUTAMÄKI, H. et al. Effect of hot flushes on cardiovascular autonomic responsiveness: A randomized controlled trial on hormone therapy. **Maturitas**, v. 72, p. 243-248, 2012.
- HAWKINS, S. A.; WISWELL, R.A. Rate and mechanism of maximal oxygen consumption decline with aging: implications for exercise training. **Sports Med**, v. 33, p. 877-888, 2003.
- HIGA, M. N. et al. Comparison of anaerobic threshold determined by visual and mathematical methods in healthy women. **Braz J Med Biol Res**, v. 40, p. 501-508, 2007.
- HUIKURI, H. V. et al. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 101, p. 47-53, 2000.
- HUIKURI, H. V. et al. Measurement of heart rate variability: a clinical tool or a research toy? **J Am Coll Cardiol**, v. 34, p. 1878-1883, 1999.
- HUIKURI, H. V.; MÄKIKALLIO, T. H.; PERKIÖMÄKI, J. Measurement of heart rate variability by methods based on nonlinear dynamics. **J Electrocardiol**, v. 36, p. 95-99, 2003.
- HUIKURI, H. V. et al. Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. **Circulation**, v. 94, p. 122-125, 1996.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Síntese de indicadores sociais - Uma análise das condições de vida da população brasileira. **Estudos e Pesquisas Informação Demográfica e Socioeconômica**, n. 32, 2013.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 6a ed., Prentice Hall, Uppedr Saddle River, NJ, 2007.

JOKINEN, V. et al. Temporal changes and prognostic significance of measures of heart rate dynamics after acute myocardial infarction in the beta-blocking era. **Am J Cardiol**, v. 92, p. 907-912, 2003.

KÄNEL, R. V. et al. Heart rate variability and biomarkers of systemic inflammation in patients with stable coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. **Clin Res Cardiol**, v. 100, p. 241-247, 2011.

KAPLAN, D. T. et al. Aging and the complexity of cardiovascular dynamics. **Biophys J**, v. 59, p. 945-949, 1991.

KEEN, R. Osteoporosis: Strategies for prevention and management. **Best Pract Res Clin Rheumatol**, v. 21, p. 109-122, 2007.

KIMURA, M. et al. Telomere length and mortality: A study of leukocytes in elderly danish twins. **Am J Epidemiol**, v. 167, p. 799-806, 2008.

LAKATTA, E. G. Arterial aging is risky. **J Appl Physiol**, v. 105, p.1321-1322, 2008.

LAKATTA, E. G.; LEVY, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. **Circulation**, v. 107, p. 139-146, 2003.

LAMPERT, R. et al. Decreased heart rate variability is associated with higher levels of inflammation in middle-aged men. **Am Heart J**, v. 156, p. 759.e1-7, 2008.

LANTTO, H. et al. Vasomotor hot flashes and heart rate variability: a placebo-controlled trial of postmenopausal hormone therapy. **Menopause**, v. 19, p. 82-88, 2012.

LIU, C. C.; KUO, T. B. J.; YANG, C. C. H. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, p. H2188-H2193, 2003.

LIPSITZ, L. A. et al. Spectral characteristics of heart rate variability before and during postural tilt. Relations to aging and risk of syncope. **Circulation**, v. 81, p. 1803-1810, 1990.

LIPSITZ, L. A.; GOLDBERGER, A. L. Loss of “complexity” and aging: potential applications of fractals and chaos theory to senescence. **JAMA**, v. 267, p. 1806-1809, 1992.

LONGO, A.; FERREIRA, D.; CORREIA, M. J. Variabilidade da frequência cardíaca. **Rev Port Cardiol**, v. 4, p. 241-262, 1995.

MADSEN, T. et al. C-reactive protein is associated with heart rate variability. **Annals of Noninvasive Electrocardiol**, v. 12, p. 216-222, 2007.

- MAGRI, F. et al. Cardiovascular, anthropometric and neurocognitive features of healthy postmenopausal women: Effects of hormone replacement therapy. **Life Sciences**, v. 78, p. 2625-2632, 2006.
- MÄKIKALLIO, T. H. et al. Clinical applicability of heart rate variability analysis by methods based on nonlinear dynamics. **Card Electrophysiol Rev**, v. 6, p. 250-255, 2002.
- MÄKIKALLIO, T. H. et al. Fractal analysis and time and frequency domain measures of heart rate variability as predictors of mortality in patients with heart failure. **Am J Cardiol**, v. 87, p. 178-182, 2001.
- MALLIANI, A. et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, p. 482-492, 1991.
- MARÃES, V. R. F. S. et al. Identification of anaerobic threshold using heart rate response during dynamic exercise. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, p. 731-735, 2005.
- MARÃES, V. R. F. S. et al. Modulação do sistema nervoso autonômico na resposta da frequência cardíaca em repouso e a manobra de Valsalva com o incremento da idade. **Rev Bras Fisioter**, v. 8, p. 97-103, 2004.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: Energia, nutrição e desempenho humano**. In: Regulação e integração cardiovasculares. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 273-275, 1998.
- MELO, R. C. et al. Effects of age and physical activity on the autonomic control of heart rate in healthy men. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, p. 1331-1338, 2005.
- MELO, R. C. et al. High eccentric strength training reduces heart rate variability in healthy older men. **Br J Sports Med**, v. 42, p. 59-63. 2008.
- MENDES, R. G. et al. Short-term supervised inpatient physiotherapy exercise protocol improves cardiac autonomic function after coronary artery bypass graft surgery – a randomised controlled trial. **Disabil Rehabil**, v. 32, p. 1320-1327, 2010.
- MONTANO, N. et al. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation**, v. 90, p. 1826-1831, 1994.
- MORROW, D. A. et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. **J Am Coll Cardiol**, v. 31, p. 1460-1465, 1998.
- MUNRO, B. H. **Statistical methods for health care research**. 4ed. Philadelphia: Lippincott, 2001.
- NEVES, L. M. T. et al. Relationship between inspiratory muscle capacity and peak exercise tolerance in patients post-myocardial infarction. **Heart Lung**, v. 41, p. 137-145, 2012.
- NEVES, V. F. C. et al. Autonomic modulation of heart rate of young and postmenopausal women undergoing estrogen therapy. **Braz J Med Biol Res**, v. 40, p. 491-499, 2007.

- NOLAN, R. P.; REID, G. I.; SEIDELIN, P. H.; LAU, H. K. C-reactive protein modulates vagal heart rate control in patients with coronary artery disease. **Clin Sci**, v. 112, p. 449-456, 2007.
- ØSTHUS, I. B. Ø. et al. Telomere Length and Long-Term Endurance Exercise: Does Exercise Training Affect Biological Age? A Pilot Study. **PLOS ONE**, v. 7, p. 1-5, 2012.
- PAGANI, M. et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympathovagal interaction in man and conscious dog. **Circ Res**, v. 58, p. 178-193, 1986.
- PAGANI, M. et al. Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. **Hypertension**, v. 12, p. 600- 610, 1988.
- PEARSON, T. A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v. 107, p. 499-511, 2003.
- PERSEGUINI, N. M. et al. Spectral and symbolic analysis of the effect of gender and postural change on cardiac autonomic modulation in healthy elderly subjects. **Braz J Med Biol Res**, v. 44, p. 29-37, 2011.
- PIKKUJÄMSÄ, S. M. et al. Cardiac interbeat interval dynamics from childhood to senescence: comparison of conventional and new measures based on fractals and chaos theory. **Circulation**, v. 100, p. 393-399, 1999.
- PINCUS, S. M. Approximated entropy (ApEn) as a complexity measure. **Chaos**, v. 5, p. 110-117, 1995.
- POMERANZ, B. et al. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. **Am J Physiol**, v. 248, p. H151-H153, 1985.
- PORTA, A. et al. An integrated approach based on uniform quantization for the evaluation of complexity of short-term heart period variability: Application to 24 h Holter recordings in healthy and heart failure humans. **Chaos**, v. 17, p. 015117-1–015117-11, 2007b.
- PORTA, A. et al. Assessment of cardiac autonomic modulation during graded head-up tilt by symbolic analysis of heart rate variability. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, p. H702-H708, 2007a.
- PORTA, A. et al. Complexity and non linearity in short-term heart period variability: comparison of methods based on local non linear prediction. **IEEE Trans. Biomed. Eng.** v. 54, p. 94-106, 2007c.
- PORTA, A. et al. Entropy, entropy rate and pattern classification as tools to typify complexity in short heart period variability series. **IEEE Trans Biomed Eng**, v. 48, p. 1282-1291, 2001.
- PORTA, A. et al. *K*-nearest-neighbor conditional entropy approach for the assessment of the short-term complexity of cardiovascular control. **Physiol Meas**, v. 34, p.17-33, 2013.

- PORTA, A. et al. Short-term complexity indexes of heart period and systolic arterial pressure variabilities provide complementary information. **J Appl Physiol**, v.113, p.1810-1820, 2012.
- POTSCH, A. A. et al. Importância da proteína C-reativa no diagnóstico e no prognóstico intra-hospitalar em pacientes com dor torácica na sala de emergência. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 87, n. 3, 2006.
- REIS, M. S. et al. Controle autonômico da frequência cardíaca de pacientes com doenças cardiorrespiratórias crônicas e indivíduos saudáveis em repouso e durante a manobra de acentuação da arritmia sinusal respiratória. **Rev Bras Fisioter**, v. 14, p. 106-113, 2010.
- RIBEIRO, T. F. et al. Heart rate variability under resting conditions in postmenopausal and young women. **Braz J Med Biol Res**, v. 34, p. 871-877, 2001.
- ROSANO, G. M. C. et al. Effect of Estrogen Replacement Therapy on Heart Rate Variability and Heart Rate in Healthy Postmenopausal Women. **Am J Cardiol**, v. 80, p. 815-817, 1997.
- ROSS, R. K. et al. Cardiovascular benefits of estrogen replacement therapy. **Am J Obstet Gynecol**, v. 160, p. 1301-1306, 1989.
- SAJADIEH, A. et al. C-reactive protein, heart rate variability and prognosis in community subjects with no apparent heart disease. **J Intern Med**, v. 260, p. 377-387, 2006.
- SANTOS, M. D. B. et al. Heart rate variability of patients with acute myocardial infarction submitted to a physiotherapy intervention 24 hours after the cardiac event: phase I of cardiac rehabilitation. **Crit Care**, v. 9, Suppl 2, p.19, 2005.
- SANTOS-HISS, M. D. B. et al. Effects of progressive exercise during phase I cardiac rehabilitation on the heart rate variability of patients with acute myocardial infarction. **Disabil Rehabil**, v. 33, p. 835-842, 2011.
- SILVA, E. et al. Design of a computerized system to evaluate the cardiac function during dynamic exercise. **Phys Med Biol**, v. 33, p. 409, 1994.
- SIMPSON, D. M.; WICKS, R. Spectral analysis of heart rate indicates reduced baroreceptor-related heart rate variability in elderly persons. **J Gerontol**, v. 43, p. M21-M24, 1988.
- SINGH, P. et al. Autonomic tone and C-reactive protein: a prospective population based study. **Clin Auton Res**, v. 19, p. 367-374, 2009.
- SLOAN, R. P. et al. RR interval variability is inversely related to inflammatory markers: the CARDIA study. **Mol Med**, v. 13, p. 178-184, 2007.
- STEWART, L. K. et al. The Influence of Exercise Training on Inflammatory Cytokines and C-Reactive Protein. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, p. 1714-1719, 2007.
- SU, S. et al. Pleiotropy of C-reactive protein gene polymorphisms with C-reactive protein levels and heart rate variability in healthy male twins. **Am J Cardiol**, v. 104, p. 1748-1754, 2009.
- TAKAHASHI, A. C. M. et al. Aging reduces complexity of heart rate variability assessed by conditional entropy and symbolic analysis. **Intern Emerg Med**, v. 7, p. 229-235, 2012.

TAKAHASHI, A. C. M. et al. The effect of eccentric strength training on heart rate and on its variability during isometric exercise in healthy older men. **Eur J Appl Physiol**, v. 105, p. 315-323, 2009.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **Circulation**, v. 93, p. 1043-1065, 1996.

TONNER, P. H.; KAMPEN, J.; SCHOLZ, J. Pathophysiological changes in the elderly. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, v. 17, p. 163-177, 2003.

TRACEY, K. J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. **J Clin Invest**, v. 117, p. 289-296, 2007.

ULLOA, L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. **Nat Rev Drug Discov**, v. 4, p. 673-684, 2005.

VARADHAN, R et al. Frailty and impaired cardiac autonomic control: New insights from principal components aggregation of traditional heart rate variability indices. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 64, p. 682-687, 2009.

VIRTANEN, I. et al. Postmenopausal estrogen therapy modulates nocturnal nonlinear heart rate dynamics. **Menopause**, v. 15, p. 693-697, 2008.

VONGPATANASIN, W. et al. Transdermal estrogen replacement therapy decreases sympathetic activity in postmenopausal women. **Circulation**, v. 103, p. 2903-2908, 2001.

VOSS, A. et al. Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability. **Phil Trans R Soc A**, v. 367, p. 277-296, 2009.

VOSS, A. et al. Short-term heart rate variability - age dependence in healthy subjects. **Physiol. Meas**, v. 33, p. 1289-1311, 2012.

WONG, J. M.; COLLINS, K. Telomere maintenance and disease. **Lancet**, v. 362, p. 983-988, 2003.

YE, S. et al. Relation between leukocyte telomere length and incident coronary heart disease events (from the 1995 Canadian Nova Scotia Health Survey). **Am J Cardiol**, v. 111, p.962-967, 2013.

ZASLAVSKY, C.; GUS, I. Idoso. Doença Cardíaca e Comorbidades. **Arq Bras Cardiol**, v. 79, p. 635-639, 2002.

ZHANG, J. Effect of age and sex on heart rate variability in healthy subjects. **J Manipulative Physiol Ther**, v. 30, p. 374-379, 2007.

ZULFIQAR, U. et al. Relation of high heart rate variability to healthy longevity. **Am J Cardiol.**, v. 105, p. 1181-1185, 2010.

APÊNDICE A

Estudo I publicado no periódico *Clinical Autonomic Research*

Natália M. Perseguini, Anielle C.M. Takahashi, Juliana C. Milan, Patrícia R. Santos, Valéria F.C. Neves, Audrey Borghi-Silva, Ester da Silva, Nicola Montano, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. *Effect of hormone replacement therapy on cardiac autonomic modulation. Clin Auton Res*, v. 24, p. 63-70, 2014. doi: 10.1007/s10286-014-0226-1.

Effect of hormone replacement therapy on cardiac autonomic modulation

Natália Maria Perseguini · Anielle Cristhine de Medeiros Takahashi · Juliana Cristina Milan · Patrícia Rehder dos Santos · Valéria Ferreira Camargo Neves · Audrey Borghi-Silva · Ester Silva · Nicola Montano · Alberto Porta · Aparecida Maria Catai

Received: 16 October 2013 / Accepted: 23 January 2014 / Published online: 12 February 2014
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract

Objective To investigate the effects of hormone replacement therapy (HRT) on heart rate variability (HRV) in healthy postmenopausal women.

Methods Two groups were evaluated: group 1 (G1): 20 women not undergoing HRT (60 ± 5.89 years), group 2 (G2): 20 women undergoing HRT (59 ± 5.70 years). The HRTs involved were either conjugated equine estrogen with or without medroxyprogesterone, synthetic estrogen hormone, estradiol associated with norethisterone acetate or isoflavonoids. Electrocardiogram was recorded in the supine position for 10 min. Spectral analysis included low

and high frequencies in absolute (LF and HF) and normalized units (LFnu and HFnu), which are predominantly cardiac sympathetic modulation (CSM) and cardiac vagal modulation (CVM) indicators, respectively. The LF/HF ratio was also calculated. Symbolic analysis involved the following indexes: 0V % (CSM indicator), 1V % (CSM and CVM indicators), 2LV % (predominantly CVM indicator) and 2UV % (CVM indicator). Shannon and conditional entropies were also calculated.

Results Spectral analysis demonstrated that HRT affected HRV. LF, LFnu and LF/HF ratio were higher (showing increased CSM), while HFnu was lower (representing decreased CVM) in G2 than in G1. Correlations between complexity indices and HFnu were significant and positive only in G1.

Interpretation Women undergoing HRT presented higher CSM and lower CVM than those who were not. Moreover, the expected positive relationship between CVM and complexity of HRV was found only in control group, thus indicating that CVM in women under therapy drop below a minimal value necessary to the association to become apparent, suggesting an unfavorable cardiac autonomic modulation in spite of HRT.

Keywords Heart rate variability · Symbolic analysis · Conditional entropy · Spectral analysis · Hormone replacement therapy

N. M. Perseguini · J. C. Milan · P. R. dos Santos · V. F. C. Neves · E. Silva · A. M. Catai (✉)
 Cardiovascular Physical Therapy Laboratory, Nucleus of Research in Physical Exercise (NUPEF), Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, UFSCar, Via Washington Luiz, km 235, São Carlos, SP 13565-905, Brazil
 e-mail: mcatai@ufscar.br

A. C. de Medeiros Takahashi
 Geriatric Physical Therapy Laboratory, Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, UFSCar, Via Washington Luiz, km 235, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

A. Borghi-Silva
 Cardiopulmonary Physical Therapy Laboratory, Nucleus of Research in Physical Exercise (NUPEF), Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, UFSCar, Via Washington Luiz, km 235, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

N. Montano
 Department of Clinical Sciences L. Sacco, Internal Medicine II, L. Sacco Hospital, University of Milan, Milan, Italy

A. Porta
 Department of Biomedical Sciences for Health, Galeazzi Orthopaedic Institute, University of Milan, Milan, Italy

Introduction

Heart rate variability (HRV) is an important approach for noninvasive analysis of cardiac autonomic function that refers to oscillations in the intervals between consecutive heartbeats, known as RR intervals (RRi) [1]. HRV has been

APÊNDICE B

Estudo II submetido ao periódico *International Journal of Cardiology*

Natália M. Perseguini, Rozangela Verlengia, Juliana C. Milan, Vinicius Minatel, Patrícia R. Santos, Anielle C.M. Takahashi, Bárbara A. Santana-Lemos, Rodrigo T. Calado, Pedro Ferreira Filho, Alberto Porta, Aparecida M. Catai. *Cardiac autonomic modulation, C-reactive protein and telomere length: new insights into aging effects.*

Cardiac autonomic modulation, C-reactive protein and telomere length: new insights into aging effects

Natália M. Perseguini^a, Rozangela Verlengia^b, Juliana C. Milan^a, Vinicius Minatel^a, Patrícia R. Santos^a, Anielle C.M. Takahashi^a, Bárbara A. Santana-Lemos^c, Rodrigo T. Calado^c, Pedro Ferreira Filho^d, Alberto Porta^e, Aparecida M. Catai^a

^aDepartment of Physiotherapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brazil

^bCollege of Health Sciences, Methodist University of Piracicaba, Piracicaba, São Paulo, Brazil

^cDepartment of Internal Medicine, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

^dDepartment of Statistics, Federal University of São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brazil

^eDepartment of Technologies for Health, Galeazzi Orthopaedic Institute, University of Milan, Milan, Italy

Corresponding Author: Aparecida M. Catai, Cardiovascular Physiotherapy Laboratory, Nucleus of Research in Physical Exercise (NUPEF), Department of Physiotherapy, Federal University of São Carlos, UFSCar, Via Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil. Telephone +55-16-3351-8705. E-mail: mcatai@ufscar.br.

ABSTRACT

Objectives: To analyze the aging effects on heart rate variability (HRV) in supine and standing, serum high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), and telomere length; to verify the age at which the changes caused by aging process are accentuated. **Methods:** 110 volunteers were divided into five groups according to age: G21-30 years, G31-40 years, G41-50 years, G51-60 years, and G61-70 years. Serum hsCRP and telomere length were analyzed. RR intervals were recorded in supine and standing (15min in each posture). HRV was assessed by spectral analysis: low and high frequencies in absolute (LF and HF) and normalized (LFnu and HFnu) units; symbolic analysis: 0V%, 1V%, 2LV%, and 2UV% indexes; and complexity analysis: Shannon entropy, complexity index (CI), and normalized CI (NCI). **Results:** Major findings: 1) HF and 2UV% reduction (vagal modulation) in G51-60, and 0V% increase (sympathetic modulation) and NCI decrease (complexity) in G61-70 in supine; 2) less efficient response to postural change with advancing age; 3) hsCRP increase in G51-60; 4) telomere shortening in G61-70; 5) stronger relationship between the major component from multivariate principal component analysis and HRV indices in supine, compared to hsCRP and telomere length. **Conclusions:** Considering that HRV indices in supine had a stronger association with aging process, we can conclude that the decrease in cardiac vagal modulation may have influenced the increase in hsCRP in G51-60, despite normal values, since this effect is described by the cholinergic anti-inflammatory pathway. Decreased cardiac vagal modulation and increased hsCRP may have contributed to the telomere shortening in G61-70.

Keywords: Heart rate variability; Symbolic analysis; Conditional entropy; Spectral analysis; C-reactive protein; Telomere length

APÊNDICE C

**Estudo adicional indiretamente vinculado ao Doutorado, publicado no periódico
*PlosOne***

Alberto Porta, Luca Faes, Vlasta Bari, Andrea Marchi, Tito Bassani, Giandomenico Nollo, Natália M. Perseguini, Juliana Milan, Vinicius Minatel, Audrey Borghi-Silva, Anielle C. M. Takahashi, Aparecida M. Catai. *Effect of age on complexity and causality of the cardiovascular control: comparison between model-based and model-free approaches. Plos One*, v. 9, p. e89463. doi:10.1371/journal.pone.0089463.

Effect of Age on Complexity and Causality of the Cardiovascular Control: Comparison between Model-Based and Model-Free Approaches

Alberto Porta^{1,2*}, Luca Faes³, Vlasta Bari^{4,5}, Andrea Marchi^{5,6}, Tito Bassani⁷, Giandomenico Nollo^{8,9}, Natália Maria Perseguini¹⁰, Juliana Milan¹⁰, Vinícius Minatel¹⁰, Audrey Borghi-Silva¹⁰, Anielle C. M. Takahashi¹⁰, Aparecida M. Catai¹⁰

1 Department of Biomedical Sciences for Health, University of Milan, Milan, Italy, **2** Galeazzi Orthopedic Institute, Milan, Italy, **3** Department of Physics and BIOtech, University of Trento, Trento, Italy, **4** Gruppo Ospedaliero San Donato Foundation, Milan, Italy, **5** Department of Electronics Information and Bioengineering, Politecnico di Milano, Milan, Italy, **6** Department of Anesthesia and Intensive Care, Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Italy, **7** Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Italy, **8** BIOtech, Department of Industrial Engineering, University of Trento, Trento, Italy, **9** IRCS PAT-FBK, Trento, Italy, **10** Department of Physiotherapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, São Paulo State, Brazil

Abstract

The proposed approach evaluates complexity of the cardiovascular control and causality among cardiovascular regulatory mechanisms from spontaneous variability of heart period (HP), systolic arterial pressure (SAP) and respiration (RESP). It relies on construction of a multivariate embedding space, optimization of the embedding dimension and a procedure allowing the selection of the components most suitable to form the multivariate embedding space. Moreover, it allows the comparison between linear model-based (MB) and nonlinear model-free (MF) techniques and between MF approaches exploiting local predictability (LP) and conditional entropy (CE). The framework was applied to study age-related modifications of complexity and causality in healthy humans in supine resting (REST) and during standing (STAND). We found that: 1) MF approaches are more efficient than the MB method when nonlinear components are present, while the reverse situation holds in presence of high dimensional embedding spaces; 2) the CE method is the least powerful in detecting age-related trends; 3) the association of HP complexity on age suggests an impairment of cardiac regulation and response to STAND; 4) the relation of SAP complexity on age indicates a gradual increase of sympathetic activity and a reduced responsiveness of vasomotor control to STAND; 5) the association from SAP to HP on age during STAND reveals a progressive inefficiency of baroreflex; 6) the reduced connection from HP to SAP with age might be linked to the progressive exploitation of Frank-Starling mechanism at REST and to the progressive increase of peripheral resistances during STAND; 7) at REST the diminished association from RESP to HP with age suggests a vagal withdrawal and a gradual uncoupling between respiratory activity and heart; 8) the weakened connection from RESP to SAP with age might be related to the progressive increase of left ventricular thickness and vascular stiffness and to the gradual decrease of respiratory sinus arrhythmia.

Citation: Porta A, Faes L, Bari V, Marchi A, Bassani T, et al. (2014) Effect of Age on Complexity and Causality of the Cardiovascular Control: Comparison between Model-Based and Model-Free Approaches. PLoS ONE 9(2): e89463. doi:10.1371/journal.pone.0089463

Editor: Mathias Baumert, University of Adelaide, Australia

Received: November 11, 2013; **Accepted:** January 20, 2014; **Published:** February 24, 2014

Copyright: © 2014 Porta et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by the São Paulo Foundation for Research Support/Brazil (FAPESP, process number 2010/52070-4), and CAPES (AUXPE-CSF-PVES-2619/2013 process number 23028.007721/2013-41). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: alberto.porta@unimi.it

Introduction

The spontaneous fluctuations of heart period (HP) about its mean value observable in five minutes' recordings are the apparent manifestation of the short-term cardiovascular control [1,2]. Short-term cardiovascular regulation is carried out by a set of interacting neural and non neural components simultaneously operating over a range of frequencies from 0.04 to 0.5 Hz in humans [3]. Since these regulatory mechanisms work according to similar but not coincident temporal scales and they are coordinated by the autonomic nervous system but maintain a certain degree of autonomy to accomplish specific local tasks (e.g. the maintenance of the peripheral vasomotion at the district level in presence of vasoconstriction), the dynamics of HP changes cannot

be fully described by a finite number of strictly periodic, fully predictable, oscillations. Complexity analysis quantifies the departure of a given signal from a fully predictable course [4–11]: the smaller the predictability, the higher the complexity. The improvement of predictability of an assigned effect signal when a presumed cause is introduced in the multivariate data set has been suggested to be a measure of the strength of the causal relation from the cause to the effect [12]: the larger the predictability improvement, the stronger the intensity of the cause-effect link.

It is well known that aging influences the complexity of the cardiovascular control, as assessed from the analysis of HP variability, by reducing the number of temporal scales involved into the regulatory process, especially in the high frequency band

ANEXO A

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS
Via Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676
CEP 13.565-905 - São Carlos - SP - Brasil
Fones: (016) 3351-8028 Fax (016) 3351-8025 Telex 162369 - SCUF - BR
cephumanos@power.ufscar.br <http://www.propq.ufscar.br>

Parecer N^o. 174/2011

Título do projeto: RELAÇÃO ENTRE MODULAÇÃO AUTÔNOMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA, COMPRIMENTO DE TELÔMERO E PROTEÍNA C-REATIVA NO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Área de conhecimento: 4.00 - Ciências da Saúde / 4.08 - Fisioterapia e Terapia Ocupacional

Pesquisador Responsável: NATALIA MARIA PERSEGUINI

Orientador: APARECIDA MARIA CATAI

CAAE: 0015.0.135.000-11

Processo número: 23112.000459/2011-09

Grupo: III

Análise da Folha de Rosto

A Folha de Rosto foi devidamente preenchida e está correta.

Descrição sucinta dos objetivos e justificativas

O objetivo deste estudo é analisar as alterações provocadas pelo processo de envelhecimento através da análise da variabilidade da frequência cardíaca, a medida do comprimento dos telômeros leucocitários e os níveis séricos da proteína C reativa e verificar em qual faixa etária isto se acentua (20 a 70 anos) e possibilitar medidas de saúde preventivas a fim de amenizar os efeitos ocasionados pelo envelhecimento.

Metodologia aplicada

As metodologias utilizadas para o estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) serão análise espectral, análise simbólica e análise das entropias de Shannon e condicional. Serão também realizadas exames laboratoriais e de esforço, com acompanhamento do cardiologista sempre que necessário.

Identificação de riscos e benefícios

Os riscos e benefícios foram bem ponderados, citando como riscos fadiga, dispnéia entre outros e o cardiologista estará presente sempre que necessário. Como benefício o sujeito da pesquisa será orientado a procurar tratamento quando houver alterações significativas e também os resultados finais poderão nortear medidas preventivas no processo do envelhecimento.

Forma de recrutamento

A amostra do estudo será composta de indivíduos aparentemente saudáveis de ambos os gêneros e de diferentes faixas etárias, procedentes da região de São Carlos - SP, de quaisquer cor, grupo ou classe social. Os participantes do estudo serão divididos em 5 grupos com 20 indivíduos cada, de acordo com a faixa etária: 20-30 anos, 30-40 anos, 40-50 anos, 50-60 anos e 60-70 anos, totalizando 100 indivíduos.

Cronograma

O Cronograma está correto e é suficiente.

Orçamento financeiro detalhado

Não haverá gastos adicional. Serão utilizados materiais permanentes do laboratório de Fisioterapia da UFSCar.

Adequação do TCLE

O TCLE é objetivo e claro.

Identificação dos currículos dos participantes da pesquisa

As pesquisadoras estão aptas a realizar o trabalho.

Comentários

A pesquisa trará relevante conhecimento científico e respeita os preceitos éticos acordados com a Resolução CNS 196/96 e suas complementares.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

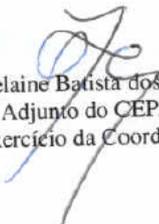
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS
 Via Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676
 CEP 13.565-905 - São Carlos - SP - Brasil
 Fones: (016) 3351-8028 Fax (016) 3351-8025 Telex 162369 - SCUF - BR
cephumanos@power.ufscar.br <http://www.propq.ufscar.br>

Conclusão

Projeto aprovado. Adequado as normas éticas de pesquisa.

Normas a serem seguidas:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
 - O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
 - O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
 - Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e).
 - Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente dentro de 1 (um) ano a partir desta dada e ao término do estudo.
- São Carlos, 22 de março de 2011.


 Roquelaine Batista dos Santos
 Coord. Adjunto do CEP/UFSCar
 no Exercício da Coordenação