

Nancy Meyer Vassão Canavesi

Efeito do treinamento físico nos marcadores
inflamatórios em pacientes com insuficiência
cardíaca

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

Área de concentração: Emergências Clínicas
Orientação: Prof. Dr. Heraldo Possolo de Souza

São Paulo
2009

*Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.
Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se
plantou; Tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar;
Tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantear, e tempo de dançar; Tempo de
espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de afastar-se de
abraçar; Tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora;
Tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar; Tempo de
amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz. (Eclesiastes 3:1-8)*

Dedicatória

Ao meu amigo Dr. Aquiles Campagnaro, que acreditou antes de mim.

Ao meu avô Marcílio (in memoriam) que não pôde dividir comigo este momento de alegria e orgulho, mas, como em todas as minhas conquistas, de uma forma ou outra esteve presente.

Aos meus queridos irmãos, Cícero e Maysa, pelo apoio, amizade, compreensão, amor e união, condições fundamentais para a ultrapassagem de todos os obstáculos.

A minha querida mãe Ignez, pelo amor incondicional, pelo colo sempre presente, exemplo de superação e dedicação, inspiração para as minhas lutas e fundamental para as minhas conquistas. Todo o meu amor.

Ao meu querido esposo Rogério, pelo incentivo, pela paciência e compreensão, pela amizade, pelo carinho, pelo companheirismo e cumplicidade, sem os quais, jamais teria chegado até aqui. Minha enorme admiração e infinito amor.

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador Prof. Dr. Heraldo Possolo de Souza, por me proporcionar inestimável aprendizado no campo científico e profissional. Meus sinceros agradecimentos pela oportunidade, colaboração, paciência, respeito e profissionalismo.

Ao Prof. Dr. Clovis Frimm, pela ajuda inestimável, pelos ensinamentos e discussões tão enriquecedores, pela paciência e pela oportunidade de acompanhar o seu trabalho junto aos pacientes, exemplo de competência e dedicação.

Meus sinceros agradecimentos a Denise F. Barbeiro, pela amizade, pelo carinho e competência que conduziu os experimentos deste trabalho. Pelo grande aprendizado proporcionado.

Ao Prof. Dr. João Manuel T. Santos, pela colaboração e apoio para desenvolver o projeto. Por me ajudar nas horas difíceis e complicadas ao longo deste doutorado, pela paciência e por proporcionar momentos de cumplicidade e compreensão.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão, pela inestimável colaboração para o desenvolvimento do projeto. Pelo grande conhecimento e experiência que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos pacientes que, acreditando na honestidade de nosso trabalho e na busca da melhor solução para suas enfermidades, concordaram em participar desse projeto, tornando possível sua realização.

Agradecimentos

A Ana Ioshabel, pela ajuda inestimável em todos estes anos, pela amizade, pela cumplicidade nos momentos difíceis e alegres e por ter me apresentado o Mc Fill.

A Ester Rios, companheira do “carraspa”, pela ajuda e amizade sempre presentes.

A Daniela Ozer, pela ajuda com os meus experimentos, pelo carinho e atenção.

A Edielle Melo, Flávia Llimona, Mariana Theobaldo, Luis A. Passos, Ricardo Petroni, Cristiane Jurado, Marcia Koike e Mariangela Coutinho, pela amizade e ajuda que todos sempre me prestaram.

À amiga Marcela Gambim, sempre presente, obrigada pelo carinho.

A Kelli Gouvea, Sueli Kubo, Fatima Abatepaulo, Hermes Barbeiro e Geraldo G. Sobrinho, meus sinceros agradecimentos por todo o carinho, ajuda e momentos agradáveis que passamos juntos.

À Angélica B. de Souza e Rose Cler Ferreira que me auxiliaram na parte burocrática do processo.

À equipe de médicos, professores, aprimorandos, estagiários e secretárias da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração, pela inestimável colaboração.

*À Dra. Ana Maria Braga, pelo carinho, pela compreensão e ajuda sempre presentes
nesse trabalho.*

*À amiga Luciene Azevedo, pela preciosa amizade, exemplo de profissionalismo e
competência. Obrigada pelo carinho e ajuda.*

*Às profissionais do Ambulatório de Especialidades de Vila Prudente, Fátima e Rosires,
pela colaboração.*

*Aos amigos Newton Nunes, Mateus Laterza, Alessandro P. Gonçalves, Carlos Rey
Perez e Achilles E. Hirata, que me ajudaram e me motivaram desde o início.*

À amiga Eliana Garisto por sua preciosa ajuda e bondade.

*À querida amiga Francisca Caldeira (in memoriam), que não pôde acompanhar neste
plano, meu ingresso na "Academia Brasileira de Letras e nem terminar o meu
doutoramento".*

A Themis Cardinot, que me incentivou e abriu o caminho para esta realização.

*Aos meus queridos familiares e mais próximos amigos pelo carinho e compreensão pelo
período de ausência.*

INDICE

A. INTRODUÇÃO	1
A.1. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.....	1
A.2. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA	3
A.3. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E INFLAMAÇÃO.....	6
A.3.1. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E TNF- α	7
A.3.2. INTERLEUCINA-6.....	9
A.3.3. VIA DE SINALIZAÇÃO CD40 / CD40L	10
A.3.4. PPARS	12
A.4. DIAGNÓSTICO ECOCARDIOGRÁFICO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	14
A.4.1. ECOCARDIOGRAMA BIDIMENSIONAL	14
A.4.2. ECOCARDIOGRAMA COM DOPPLER	14
A.4.2.1 DOPPLER PULSÁTIL	15
A.4.2.2 DOPPLER TECIDUAL	15
A.5. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E EXERCÍCIO FÍSICO	17
B. HIPÓTESE: INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, EXERCÍCIO FÍSICO E INFLAMAÇÃO	23
C. OBJETIVOS	25
C.1. GERAL	25
C.2.ESPECÍFICOS	25
D. CASUÍSTICA E MÉTODOS	27
D.1. COMISSÃO DE ÉTICA	27
D.2. SELEÇÃO	27
D.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	27
D.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	28
D.5. SELEÇÃO DOS GRUPOS	30
D.6. SEGUIMENTO	30

D.7. AVALIAÇÃO LABORATORIAL	30
D.7.1. COLETA DE SANGUE PARA DOSAGEM DE IL-6, TNF- α , CD40/CD40L, PPAR α E γ	30
D.7.2. PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO	31
D.7.3. TESTE ERGOESPIROMÉTRICO	32
D.7.4. TRANSCRIÇÃO REVERSA – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – RTPCR	33
D.7.5. QUANTIFICAÇÃO DE TNF-A, IL-6 E CD40L	36
D.7.6. ECOCARDIOGRAMA NO ESTADO BASAL	37
D.7.6.1. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SISTÓLICA DO VE	37
D.7.6.2. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DIASTÓLICA DO VE	40
E. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
F. RESULTADOS	43
F.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA E ADERÊNCIA	43
F.2. AVALIAÇÃO ANATÔMICA E FUNCIONAL	45
F.3. MARCADORES DE ATIVIDADE INFLAMATÓRIA	61
G. DISCUSSÃO	70
H. CONCLUSÃO	79
I. BIBLIOGRAFIA	80

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1. Plano apical 4, 2 e 3 Câmaras, com divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos, e suas correspondências com a irrigação coronariana.	38
Figura 2. Cálculo dos volumes do ventrículo esquerdo pelo Método de Simpson.	39
Figura 3. Consumo de oxigênio (VO_2) pico nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado .	44
Figura 4. Fração de ejeção nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	48
Figura 5. Volume diastólico final nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	49
Figura 6. Volume sistólico final nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	50
Figura 7. Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	51
Figura 8. Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	52
Figura 9. Evolução da onda E nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	56
Figura 10. Evolução da onda A nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	57
Figura 11. Evolução da relação Onda E/Onda A nos grupos controle	58

e treino.

Figura 12. Evolução da relação de ondas E/Ea nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	59
Figura 13. Evolução da onda Ea nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	60
Figura 14. Dosagem de TNF- α nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	64
Figura 15. Dosagem de IL-6 nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	65
Figura 16. Dosagem de CD40L nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	66
Figura 17. Evolução da expressão de RNAm para o receptor de membrana CD40 em leucócitos circulantes nos grupos controle e treino.	67
Figura 18. Expressão de PPAR α nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	68
Figura 19. Expressão de PPAR γ nos períodos pré e pós intervenção nos grupos insuficiência cardíaca treinado e não treinado.	69
Tabela 1. Características físicas e funcionais, etiologia e medicação dos pacientes com insuficiência cardíaca incluídos no protocolo.	29
Tabela 2. Dados da anatomia e função sistólica do ventrículo esquerdo.	47
Tabela 3. Dados da anatomia e função diastólica do ventrículo esquerdo.	55
Tabela 4. Atividade inflamatória nos períodos pré e pós treinamento físico nos grupos controle e treino.	63

Lista de Abreviaturas e Siglas

%	porcentagem
µg	micrograma
µl	microlitro
µM	micromolar
ACC	artéria coronariana circunflexa
ACD	artéria coronariana direita
AP1	do inglês “Activator protein 1”, traduzido como ativador de proteína 1
AT I / AT II	angiotensina I, angiotensina II
BCL6	do inglês “B cell lymphoma 6”
BSA	do inglês “Bovine serum albumin” traduzido como albumina sérica bovina
CD	do inglês “Cluster off differentiation”, traduzido como conjuntos de diferenciação
cDNA	do inglês “ Complementary deoxyribonucleic acid” traduzido como ácido desoxiribonucleico complementar
CF	classe funcional
Cm	centímetro
CMH	cardiomiopatia hipertrófica
DA	artéria descendente anterior (ramo interventricular anterior)
DAC	doença arterial coronariana

DM	diabetes melito
DSVE	diâmetro sistólico ventrículo esquerdo
DDVE	diâmetro diastólico ventrículo esquerdo
DT	Doppler tecidual
ELISA	do inglês “Enzyme linked immuno sorbent assay” traduzido como ensaio imunoenzimático
FEVE	fração de ejeção ventrículo esquerdo
GAPDH	inglês “Glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase, traduzido para gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase
HAS	hipertensão arterial sistólica
IAM	infarto agudo do micárdio
IC	insuficiência cardíaca
IECA	inibidor da enzima conversora de angiotensina
ERO	espécies reativas de oxigênio
IκBa	do inglês “Inhibitor of the transcription factor NFκB, traduzido como proteína inibitória kappa B-alpha
IIs	do inglês “Way of insulinica sinalling”, traduzido como via de sinalização por insulina
Kg	kilo
IL	interleucina
IMC	índice de massa corporal
LIM	laboratório de investigação médica
LTB4	leucotrieno B4

LPS	lipopolissacarídeo
Mg	miligramas
Min	minuto
NF-kB	do inglês “Factor nuclear kappa B, traduzido como fator-nuclear kappa-B
eNOS	óxido nítrico sintase endotelial
iNOS	óxido nítrico sintase induzível
nM	nanomolar
NO	óxido nítrico
NYHA	New York Heart Association
Pb	pares de base
PBS	do inglês “Phosphate suffeed saline”, traduzido como tampão salina fosfato
PCR	ponto de compensação respiratória
PetCO₂	pressão parcial de dióxido de carbono
PetO₂	pressão parcial de oxigênio
Pg	picograma
PPAR	do inglês “Peroxisome proliferator activated receptors “ , traduzido como receptores ativados por proliferadores de peroxissomo
RNAm	do inglês “Messenger ribonucleic acid” traduzido como ácido ribonucléico mensageiro

RT-PCR	do inglês “Reverse transcriptase-polymerase chain reaction”, traduzido como transcrição reversa-reação em cadeia de polimerase
Seg	segundo
SOD	superóxido dismutase
SNS	sistema nervoso simpático
SRAA	sistema renina-angiotensina-aldosterona
STATS	do inglês “Signal Transducers and Activator of Transcription”, traduzido como sinal de transdução e transcrição
TNF-α	do inglês “Tumor necrosis factor-alpha” traduzido como fator de necrose tumoral-alpha
VCAM	do inglês “Vasculia adhesin molecule”, traduzido como molécula de adesão vascular
VCO₂	produção de dióxido de carbono
VDF	volume diastólico final
VE	ventilação pulmonar
VO₂	volume de oxigênio
VS	volume sistólico
VSF	volume sistólico final
W	watts

RESUMO

Em pacientes com insuficiência cardíaca crônica podemos observar um aumento da atividade inflamatória, caracterizada por aumento de proteínas de fase ativa, citocinas circulantes e ativação de células do sistema imune. É descrito também que o exercício físico beneficia esses pacientes, porém ainda não está claro se esse benefício ocorre através da modulação do processo inflamatório no sistema cardiovascular. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar, em pacientes com insuficiência cardíaca, o efeito do treinamento físico sobre a disfunção ventricular, avaliada pelo quadro clínico e ecocardiograma, e sobre vias de sinalização envolvidas no processo inflamatório cardiovascular, como CD40/CD40L, IL-6, TNF- α e PPARs. Foram selecionados dezoito pacientes com diagnóstico de IC, todos classificados com classe funcional II, com idade $57,17 \pm 2,9$ anos. Os pacientes foram randomizados em dois grupos: grupo controle, que permaneceu sedentário e grupo treino, onde os pacientes foram treinados três vezes por semana, em cicloergômetro, durante 60 minutos por quatro meses. Os marcadores inflamatórios plasmáticos, CD40L, IL-6, TNF- α foram dosados por ELISA e a expressão de mRNA de CD40 e PPARs α e γ em leucócitos circulantes pela técnica de RT-PCR. A função cardíaca foi avaliada pelo ecocardiograma, e a capacidade funcional foi avaliada através da ergoespirometria. Os pacientes submetidos ao treinamento físico apresentaram significativo aumento do VO_2 , comparados ao grupo controle ($17,52 \pm 1,47$ vs $21,14 \pm 0,86$, respectivamente;

$p < 0,05$). Também foi observada melhora da função ventricular diastólica e manutenção da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, que piorou nos pacientes mantidos sedentários (controle $(38,00 \pm 3,37$ vs $36,44 \pm 3,38$, respectivamente; $p < 0,05$). Em relação às vias de sinalização inflamatórias, não houve diferença em nenhum dos marcadores estudados (níveis plasmáticos de IL-6, TNF- α e CD40L e na expressão de mRNA de CD40 e PPARs α e γ em leucócitos circulantes) quando comparados o grupo treinado ao controle. Conclui-se que o treinamento físico é efetivo na melhora da capacidade funcional e função cardíaca e que a atividade inflamatória característica nesses pacientes não está associada com essas mudanças.

Descritores: insuficiência cardíaca, inflamação, treinamento físico , disfunção diastólica

SUMMARY

Patients with chronic heart failure present increased inflammatory activity, characterized by high levels of active phase proteins and cytokines, as well as activated immune cells. Physical training is reported to be beneficial for these patients, however, it is not clear whether this benefit occurs thorough modulation of the inflammatory process that the cardiovascular system. Therefore, the main objective of this study was to investigate, in patients with chronic heart failure, the effect of physical training on ventricular dysfunction, assessed by clinical exam and echocardiography, as well as on signaling pathways involved in the cardiovascular inflammatory process, like CD40/CD40L, IL-6, TNF and PPARs.

Eighteen patients diagnosed with chronic heart failure, functional class II, were selected (age=57,17±2,9). They were randomly divided in two groups: a control group and a trained group, whose patients were submitted to physical training for 4 months, 3 times/week, for 60 min, in a cycle ergometer. Plasmatic cytokines and CD40L were measured by ELISA; mRNA for CD40 and PPARs α / γ were measured by RT-PCR in circulating leukocytes. Cardiac function was evaluated by echocardiography and functional capacity by ergospirometry.

Patients submitted to physical training presented a significant increase in VO_2 , compared to control group (17,52±1,47 vs 21,14±0,86, respectively; $p<0,05$). Improvement in diastolic ventricular function was also observed, as well as maintenance of left ventricular ejection fraction, that was impaired in patients in the control group (38,00±3,37 vs 36,44±3,38, respectively; $p<0,05$). Regarding

the inflammatory signaling pathways, no difference was observed in any of the markers evaluated (plasmatic levels of IL6, TNF, CD40L and expression of mRNA for CD40 and PPARs α / γ in circulating leukocytes).

Therefore, we can conclude that physical training is effective in improving functional capacity and cardiac function in patients with chronic failure; this phenomenon is unlikely to be related to modulation of inflammatory signaling pathways characteristic of cardiovascular diseases.

Descriptors: heart failure, inflammation, physical training, diastolic dysfunction

A. INTRODUÇÃO

A.1. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Nos últimos vinte e cinco anos poucas doenças receberam tanto destaque como a insuficiência cardíaca (IC). Essa atenção se justifica pela importância dessa doença em termos epidemiológicos e econômicos. Nos Estados Unidos, 5 milhões de pessoas são acometidas de IC (AMERICAN HEART ASSOCIATION,2002), sendo de 20% a chance de uma pessoa de 40 anos desenvolver IC durante a vida, segundo o estudo de Framingham, (Lloyd-Jones, Larson et al. 2002).

Um outro dado relevante é o fato da mortalidade por IC ter aumentado quatro vezes na última década, sendo diagnosticados mais de 550.000 novos casos e de um aumento superior a 100% na incidência de internação entre 1979 e 1998. Além disso, as mortes atribuídas a esta enfermidade aumentaram 135% nas últimas três décadas. (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2002).

Do ponto de vista econômico, o tratamento de pacientes com IC é caro, com tendência de aumento nos últimos anos, devido a novas e caras terapêuticas, o que gerou uma grande sobrecarga nos custos dos serviços públicos de saúde dos americanos (O'Connell and Bristow 1994).

No Brasil, dados provenientes do DATASUS confirmam esta tendência mundial. Segundo o Ministério da Saúde, em 2003 a IC foi a principal causa de

hospitalização em indivíduos acima dos 60 anos, representando 10,9% de todas as internações hospitalares. Corroborando os dados epidemiológicos de outros países, observamos que, também em nosso país, o custo sócio-econômico da síndrome é elevado, envolvendo dispêndio com medicamentos, internações repetidas, perda de produtividade, aposentadorias precoces, eventuais cirurgias, e, ocasionalmente, transplante cardíaco (Araujo, Tavares et al. 2005).

Neste contexto, a IC é um problema de saúde pública, não apenas pela sua prevalência e letalidade, como também pela sua morbidade nos casos avançados. Recente estudo mostrou que a IC continua evoluindo com alta mortalidade e alta-taxa de re-hospitalização, de 263 pacientes monitorados por um ano, apenas 44,5% não necessitaram passar no pronto socorro ou morreram. (Barretto, Del Carlo et al. 2008).

Assim, podemos afirmar com segurança que a IC preocupa não apenas pela sua incidência como também pela sua morbi-mortalidade. Quaisquer medidas que reduzam os valores supracitados, sem afetar a qualidade de vida ou segurança dos pacientes serão bem aceitas, sejam estas medicamentosas ou comportamentais.

A.2. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA

A síndrome da IC é conseqüência da incapacidade dos ventrículos em bombear quantidades adequadas de sangue para manter as necessidades periféricas do organismo (Remme and Swedberg 2001) . A IC sobrevém após agressão cardíaca, que prejudique sua habilidade de ejetar sangue, levando à diminuição do débito cardíaco, com conseqüente baixo fluxo renal, levando a retenção de sódio e água e ao surgimento de edemas periférico e pulmonar (McAlister, Ezekowitz et al. 2004).

A evolução do conhecimento sobre a fisiopatologia da síndrome mudou a maneira como os pesquisadores e clínicos a descrevem. O atual paradigma enfatiza uma visão integrada do sistema cardiovascular, sugerindo que a IC seja vista como uma doença de circulação, não apenas do coração (Petrie and McMurray 2001) . Quando ocorre a diminuição do débito cardíaco após uma agressão miocárdica, mecanismos neuro-hormonais são ativados com o objetivo de preservar a homeostase circulatória (Gaffney and Braunwald 1963). Embora originalmente vista como uma resposta compensatória benéfica, a liberação endógena de neuro-hormônios vasoconstritores parece exercer papel deletério no desenvolvimento da IC congestiva, pelo aumento da sobrecarga de volume pré-carga e da pós-carga do ventrículo já com contratilidade diminuída, levando à progressão da IC já existente (Bristow 1993). Os neuro-hormônios liberados na circulação podem exacerbar também as anormalidades

metabólicas já existentes , ocasionando o aparecimento de arritmias cardíacas (Schrier and Abraham 1999). Assim podemos afirmar que, através destes mecanismos, a ativação neuro-hormonal contribui de maneira significativa para os sintomas de IC, assim como para a alta mortalidade dos portadores desta doença (Swedberg, Eneroth et al. 1990).

Precedendo a incapacidade funcional encontrada nos pacientes com IC em estágios avançados, há o desencadeamento de uma série de fenômenos progressivos. Após a agressão inicial ao miocárdio, seja ela isquêmica ou de outra origem, a situação de baixo débito estimula uma sequência de eventos com o objetivo de restabelecer a homeostase circulatória. Estas respostas, inicialmente de natureza hemodinâmica, envolvem complexos mecanismos neuro-humorais. Em pacientes com IC ocorre uma redução expressiva do fluxo sangüíneo renal com ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A renina, produzida pelo aparelho justaglomerular renal em situação de baixo débito, desencadeia a conversão de angiotensinogênio em angiotensina I (AT I). A AT I possui baixa propriedade vasoconstritora e necessita ser convertida em angiotensina II para exercer plenamente as suas características hemodinâmicas. Esta conversão ocorre principalmente quando o sangue circula pelo território pulmonar e é catalisada pela enzima conversora da angiotensina (ECA). A AT II recém produzida atua predominantemente no território arteriolar causando vasoconstrição. Paralelamente, a AT II estimula diretamente a retenção de sal e água pelo rim, além de induzir a supra-renal a produzir

aldosterona, potencializando a reabsorção de sal e água pelos túbulos renais. A vasoconstrição junto com o incremento da volemia absoluta causadas pela produção da AT II aumenta a pré-carga cardíaca. Este aumento da pré-carga terá o papel de tentar compensar o desempenho ventricular deprimido através do mecanismo de Frank-Starling. Concomitantemente aos processos acima descritos, a situação de baixo débito para a periferia faz com que a musculatura esquelética dependa cada vez mais do metabolismo anaeróbio para a sua sobrevivência. Com a anaerobiose, uma série de produtos como íons hidrogênio, potássio e lactato são liberados para a circulação. Entre estes dejetos, o íon hidrogênio merece uma atenção especial (Scott, Wensel et al. 2003). A sua atuação nos metabolorreceptores periféricos excita as fibras aferentes sensíveis aos produtos do trabalho muscular, com conseqüente aumento do tônus simpático. (Hammond, Augustyniak et al. 2000) Esta hiperativação simpática atua na resistência vascular aumentando a pós-carga ventricular, o que dificulta ainda mais a dinâmica cardíaca (Hansen, Thomas et al. 1994; Mittelstadt, Bell et al. 1994; Piepoli, Clark et al. 1996).

Embora os processos neuro-humorais desencadeados pelas alterações hemodinâmicas sejam reconhecidos como importantes mediadores dos sintomas e sinais observados nos pacientes com IC, não são capazes de esclarecer, em sua totalidade, os fenômenos observados nessa síndrome.

A.3. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E INFLAMAÇÃO

Durante anos as doenças cardiovasculares foram consideradas como distúrbios decorrentes primariamente de alterações hemodinâmicas. Esse ponto de vista foi abandonado nas últimas décadas, em prol de uma abordagem mais complexa, onde os fenômenos inflamatórios desempenham um papel crucial (Elster, Braunwald et al. 1956; Levine, Kalman et al. 1990; Seta, Shan et al. 1996). Exemplo mais evidente dessa mudança de paradigma é a fisiopatologia da aterosclerose, antigamente considerada uma doença de acúmulo passivo de lípidos na parede de grandes e médias artérias, até a década de 80, quando passou a ser encarada como um processo dinâmico de remodelamento vascular, evoluindo de uma disfunção endotelial até a formação, desenvolvimento e ruptura de placa aterosclerótica, desencadeando as síndromes coronarianas agudas (Stratford, Britten et al. 1986; Walsh, Weinstein et al. 1986; Orlandi, Dunn et al. 1988) . Em todo esse processo evolutivo, fenômenos inflamatórios estão sempre presentes. Paralelamente a esses achados na aterosclerose, demonstrou-se, em outras doenças cardiovasculares, inclusive a IC, a participação crucial de células do sistema imune e ativação de suas vias de sinalização.

A.3.1. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E TNF- α

O miocárdio quando agredido é capaz de produzir grandes quantidades de citocinas, em especial o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (Torre-Amione, Kapadia et al. 1995);(Habib, Springall et al. 1996). Em concentrações fisiológicas esta citocina é um importante regulador inflamatório, estimulando a quimiotaxia de macrófagos e neutrófilos, aumentando sua capacidade fagocítica e citotóxica (Djeu, Blanchard et al. 1988). Porém, quando produzido em excesso, o TNF- α é capaz de induzir a apoptose cardíaca e a atrofia muscular periférica (Jain, Jakubowski et al. 2009); (Krown, Page et al. 1996). Em ratos transgênicos, estimulados artificialmente a produzir TNF- α em excesso, houve a indução de uma cardiopatia semelhante àquela encontrada nos humanos, com redução expressiva da função contrátil miocárdica (Kubota, McTiernan et al. 1997).

Além de ser um indutor de disfunção ventricular em modelos animais, o TNF- α possui papel prognóstico em pacientes com IC. Valores elevados de TNF- α estão associados a maior mortalidade em indivíduos com IC, especialmente quando se considera o receptor solúvel tipo 2 do TNF- α (Deswal, Petersen et al. 2001). Além disto, o TNF- α está associado à baixa tolerância aos esforços (Cicoira, Bolger et al. 2001) e se correlaciona inversamente com o fluxo periférico (Anker, Volterrani et al. 1998), porque

provavelmente altos títulos de TNF- α interferem nas propriedades vasodilatadoras dependentes do endotélio.

Dados experimentais obtidos em células em cultura demonstram que a administração de soro humano rico em TNF- α foi capaz de inibir a óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) (Agnoletti, Curello et al. 1999), enzima que atua na conversão de L-arginina em citrulina no interior do endotélio com a liberação de óxido nítrico (NO). A molécula recém-formada difunde-se para a camada muscular subjacente ao endotélio induzindo o processo de vasodilatação. Logo, o bloqueio da eNOS pelo TNF- α irá diminuir o óxido nítrico endotelial com conseqüente comprometimento da vasodilatação endotélio dependente, justificando a correlação inversa entre o fluxo sanguíneo periférico e valores de TNF- α .

Paralelamente à inibição da eNOS, o TNF- α estimula a óxido nítrico sintase induzida (iNOS) miocárdica (Habib, Springall et al. 1996) com geração de quantidade em excesso de NO. Esta molécula exerce no coração um efeito inotrópico negativo, comprometendo ainda mais a sua função contrátil (Finkel, Oddis et al. 1992). Na musculatura periférica, o iNOS está inversamente relacionada com a creatina quinase mitocondrial, que é uma das enzimas responsáveis pela ressíntese da fosfocreatina. Baixos valores de fosfocreatina contribuem para a baixa capacidade física característica dos pacientes com IC com altas concentrações de TNF- α (Hambrecht, Adams et al. 1999).

Assim podemos concluir que a presença de altos níveis séricos de TNF- α em pacientes com IC representam tanto comprometimento da função miocárdica, quanto do controle periférico do fluxo sanguíneo.

A.3.2. INTERLEUCINA-6

Em estudos *in vitro* foi observado que a presença de elevados níveis séricos de citocinas é capaz de ativar outros elementos inflamatórios, e assim contribuir para a progressão da IC. Um exemplo desta ativação em cascata ocorre com a indução da Interleucina-6 (IL-6) pelo TNF- α (Adamopoulos, Parissis et al. 2001). A secreção de IL-6 é estimulada não só pelo fator de necrose tumoral, mas também por ATII, (Han, Runge et al. 1999) criando um elo entre a ativação neuro-humoral e a produção de citocinas pró-inflamatórias. Esta associação é também sugerida pela correlação entre a IL-6 e hormônios adrenérgicos (adrenalina e noradrenalina), indicando que o sistema nervoso simpático (SNS) pode estar envolvido na produção de IL-6 (Wollert and Drexler 2001).

É necessário notar, entretanto, que apesar de associada ao SNS, a IL-6 possui algumas propriedades opostas às aquelas desencadeadas pela ativação simpática. Em estudos *in vitro* (Ohkawa, Ikeda et al. 1995), a IL-6 inibiu a vasoconstrição induzida por fenilefrina, levantando a hipótese de que esta

citocina tenha o papel de contrabalancear a vasoconstrição excessiva causada pela ativação do SNS.

De maneira semelhante ao TNF- α , a IL-6 está aumentada nos pacientes com IC, e seus altos títulos também estão associados à um pior prognóstico (Orus, Roig et al. 2000). Seu local de produção é ainda incerto, contudo foram encontradas concentrações mais elevadas na veia femoral quando comparada à artéria femoral, sugerindo que sua origem se encontre na circulação periférica (Tsutamoto, Hisanaga et al. 1998). Esta citocina está envolvida no processo de hipertrofia ventricular através de estímulos a receptores específicos encontrados nos miócitos (Niebauer 2008) . Paralelamente, a IL-6 protege os miócitos da apoptose (Sheng, Knowlton et al. 1997), destacando o seu papel adaptativo na IC, encontrado principalmente nas formas mais iniciais desta doença.

A.3.3. VIA DE SINALIZAÇÃO CD40 / CD40L

CD40 é uma proteína de membrana da família de receptor TNF, e o CD40L é um membro da família TNF, ambas são co-expressadas pelos macrófagos, linfócitos T, plaquetas, células endoteliais e células musculares lisas (van Kooten and Banchereau 2000). Dessa forma, elas foram introduzidas como novos marcadores inflamatórios (Mach, Schonbeck et al. 1998). A CD40L existe na forma solúvel (sCD40L) e também como uma proteína

transmembrana. Níveis circulantes de sCD40L refletem a ativação do sistema CD40/CD40L. Este sistema tem sido implicado na fisiopatologia da aterosclerose, desde o processo de aterogênese precoce até o processo tardio das complicações trombóticas (Schonbeck, Mach et al. 1999). Entre suas funções, o sistema CD40/CD40L exerce diversos efeitos pró-inflamatórios e pró-trombóticos, como: estimulação das espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células endoteliais, as quais antagonizam a produção de óxido nítrico (NO) (Gorlach, Brandes et al. 2000); indução da expressão de moléculas de adesão (CAMs) nas células musculares lisas e endoteliais (Griendling, Minieri et al. 1994); estimulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias (Karmann, Hughes et al. 1995) , aumento da expressão de metaloproteinases, tornando a placa aterosclerótica mais frágil; indução da expressão do fator tissular no endotélio e células musculares lisas, promovendo o aumento do potencial trombogênico da placa e participação na ativação plaquetária. (Libby 2000). Nesse sentido, tem sido demonstrado que o CD40 é expresso da superfície de plaquetas, e sua ligação resulta em ativação plaquetária, a qual promove a formação do trombo. (Ferroni, Santilli et al. 2007)

Além das interações importantes do CD40/CD40L na doença aterosclerótica, Ueland e col., mostraram que os níveis séricos de CD40L, estavam aumentados em pacientes com insuficiência cardíaca aguda após IAM e particularmente em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva (Ueland, Aukrust et al. 2005).

Estudos de diferentes compartimentos arteriais sugerem que a vascularização das extremidades inferiores e do miocárdio podem produzir e secretar sCD40L na insuficiência cardíaca crônica. Alguns estudos mostraram que células vasculares musculares lisas, quando pré-estimuladas com angiotensina II e posteriormente com CD40L, aumentaram a secreção de IL-6 quando comparadas com as células não estimuladas com AT II (Ruef, Browatzki et al. 2007). Outro estudo realizado em nosso laboratório verificou que células musculares lisas estimuladas com AT II, aumentaram a produção de EROs dependente da atividade da via de sinalização de CD40/CD40L (Souza, Frediani et al. 2009). A expressão de CD40 nos cardiomiócitos, podem interagir com o CD40L seja na sua forma solúvel ou expresso na superfície das plaquetas e de células T infiltrantes, contribuindo para a persistente inflamação tecidual e remodelamento do miocárdio (Krown, Page et al. 1996)., sugerindo que o CD40/CD40L desenvolve um papel patôgenico em humanos portadores de insuficiência cardíaca.

A.3.4. PPARS

Os PPARs, receptores ativados por proliferadores de peroxissomos, são fatores de transcrição, pertencentes à uma superfamília de receptores nucleares. Os PPARs são encontrados em três isoformas α , β e γ , com diferentes distribuição tecidual. Em comum, esses receptores são responsáveis

pelo controle de inúmeros genes importantes no metabolismo lipídico e de carboidratos, bem como a adipogênese e do transporte de lipoproteínas.(Francis, Fayard et al. 2003).

Recentemente foi observada a importância dos PPARs no controle de diferentes tipos de resposta inflamatória, seja induzindo a expressão de diversas proteínas com ação anti-inflamatória ou inibindo a atividade de fatores de transcrição como NFκB, STATs, AP-1 e NF-AT (Poynter and Daynes 1998; Staels, Koenig et al. 1998). Ao inibir estes fatores, há a repressão da expressão de várias moléculas estimulantes da resposta inflamatória: citocinas, moléculas de adesão, assim como enzimas efetoras da resposta inflamatória, como iNOS. Existem dados sugerindo que o PPARα pode controlar a duração e intensidade da resposta inflamatória induzindo a expressão de proteínas envolvidas no catabolismo de mediadores lipídicos pró-inflamatórios, como: IκBa, IIs, LTB₄, LPS, TNF, TNFR, VCAM1 (Chinetti, Fruchart et al. 2000) . Além disso, o PPARβ/γ pode ter um efeito pró ou anti-inflamatório. Na ausência do ligante, o PPARβ/γ seqüestra um repressor (BCL-6), que impede que este fator de transcrição exerça sua função anti-inflamatória, levando à inflamação. Na presença do ligante, o PPARβ/γ libera o repressor, gerando efeitos anti-inflamatórios (Lee, Chawla et al. 2003).

Outros estudos interessantes mostraram que a atividade dos PPARs podem exercer alguns efeitos favoráveis na função cardíaca, diminuindo hipertrofia em cardiomiócitos e fibrose intersticial (Shiomi, Tsutsui et al. 2002; Chen and Mehta 2006).

Embora os dados citados acima sugiram um papel importante dos PPARs no controle da inflamação, seu papel nas doenças inflamatórias crônicas ou agudas ainda não foi completamente esclarecido, porém é o motivo de crescente interesse por parte dos pesquisadores desta área.

A.4. DIAGNÓSTICO ECOCARDIOGRÁFICO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A.4.1. ECOCARDIOGRAMA BIDIMENSIONAL

O ecocardiograma bidimensional fornece informações anatômicas e funcionais do coração, é método rápido, seguro e largamente disponível, sendo o exame ideal para a documentação de pacientes com insuficiência cardíaca, pois permite aferir as dimensões das câmaras cardíacas, a configuração geométrica, a espessura das paredes, a massa miocárdica, a função sistólica segmentar do ventrículo esquerdo, a função sistólica global do ventrículo esquerdo e a função diastólica do ventrículo esquerdo.

A.4.2. ECOCARDIOGRAMA COM DOPPLER

Sabe-se que, quando um feixe de ultra-som emitido por um transdutor atinge uma estrutura em movimento, a onda refletida é diferente daquela

emitida. Assim, quando este feixe atinge células que estão se movendo em direção ao transdutor, a frequência da onda refletida será maior que a emitida, e naquelas células que se movem afastando-se do transdutor, a frequência da onda refletida será menor que a emitida. Estas variações de frequência podem ser medidas pelos equipamentos de ecocardiografia, que utilizam a equação de Doppler para medir as à velocidade de movimentação das células que compõem os tecidos.

Estas velocidades podem ser medidas pelo Doppler pulsátil, contínuo e mapeamento de fluxo em cores.

A.4.2.1 DOPPLER PULSÁTIL

O Doppler pulsátil é utilizado para obtenção de velocidades provindas dos fluxos através das valvas cardíacas e vasos sangüíneos, para estimativa de fluxos, débito cardíaco, volume regurgitante, quantificação de comunicações intracardíacas e avaliação da função diastólica.

A.4.2.2 DOPPLER TECIDUAL

O Doppler tecidual utiliza o mesmo conceito do Doppler convencional então, como o sangue e o miocárdio movem-se com velocidades e amplitudes

diferentes, podemos identificar os sinais provenientes do miocárdio isoladamente.

O músculo se movimenta com velocidades muito menores (5 a 10 cm/seg) que as do fluxo sanguíneo (50 a 100 cm/seg), além de produzir sinais com amplitude cem vezes maiores que o sangue (Rychik and Tian 1996). O Doppler pulsátil convencional utiliza um determinado filtro para eliminar os ruídos de baixa frequência e alta amplitude provenientes do miocárdio, podendo desta forma calcular a velocidade do fluxo sanguíneo. A eliminação deste filtro permite a aquisição dos sinais do miocárdio e o cálculo instantâneo da sua velocidade de movimentação em um ponto específico.

Na avaliação da função diastólica global, a maior contribuição do Doppler tecidual está em diferenciar os padrões de fluxo de enchimento ventricular normal do pseudonormal, uma vez que avalia exclusivamente a velocidade de movimentação do miocárdio (Sohn, Chai et al. 1997; Garcia, Thomas et al. 1998). Em relação à avaliação da função diastólica regional, parece ser possível detectar inversão de relação E/A em segmentos isolados do miocárdio em uma fase mais precoce. Esta inversão ocorre inicialmente nos segmentos basais, sendo que a presença de uma alteração regional diastólica em mais de 50% de segmentos miocárdicos está associada a uma relação $E/A < 1$ ao Doppler pulsátil no nível do anel mitral. (Wilkenshoff, Hatle et al. 2001)

A.5. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E EXERCÍCIO FÍSICO

Entre as características clínicas encontradas nos pacientes com IC, a intolerância aos esforços sempre mereceu grande preocupação. A sobrevida dos pacientes com IC está diretamente relacionada com a incapacidade ao esforço, sendo usada, inclusive, para classificação da gravidade da doença e como uma maneira de estimar sobrevida (Remme and Swedberg 2001). . Tolerância aos esforços prediz uma boa evolução nos pacientes com diagnóstico de IC, porém assintomáticos (1992, SOLVD) , enquanto nos pacientes gravemente incapacitados, onde observa-se mortalidade de 50% em um ano, observamos uma grande intolerância aos esforços. (Bocchi, Massuda et al. 1999). Nas últimas duas décadas, um grande número de estudos tem surgido, descrevendo o benefício de um programa de atividade física em indivíduos com IC. Esta atividade seria capaz de melhorar a tolerância aos esforços, sem afetar adversamente a função ventricular (Jette, Heller et al. 1991). Os eventos envolvidos nesta melhora seriam de origem multifatorial, e provavelmente envolvem a remodelação autonômica (Coats, Adamopoulos et al. 1992), a reversão da miopatia periférica (Hambrecht, Niebauer et al. 1995), a diminuição de marcadores inflamatórios (Larsen, Aukrust et al. 2001; Adamopoulos, Parissis et al. 2002) e a melhora da capacidade vasodilatadora endotélio dependente (Hambrecht, Fiehn et al. 1998).

Nos últimos trinta anos, houve uma mudança radical quanto ao papel do treinamento físico na evolução da IC. Inicialmente, todos os pacientes acometidos por esta doença eram aconselhados a restringir a sua atividade física, mesmo em sua forma mais branda (Braunwald, Zipes, et. Al. 1987). Os primeiros estudos relatando o benefício de um programa de atividade física programada começaram a surgir no final da década de 70. Lee e colaboradores, em um estudo histórico, demonstraram que um pequeno grupo de pacientes com disfunção ventricular de origem isquêmica apresentou melhora da capacidade física após 18 meses de treinamento (Lee, Ice et al. 1979). Essa melhora com o treinamento foi depois confirmada por inúmeros outros estudos, com incremento médio do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máximo) entre 12-23% (Keteyian, Brawner et al. 1999) . O grande receio que um programa de exercício programado pudesse aumentar a mortalidade nos pacientes com IC foi logo descartado por Conn (Conn, Williams et al. 1982) e posteriormente por outros autores (Coats, Adamopoulos et al. 1992; Koch, Douard et al. 1992; Belardinelli, Georgiou et al. 1995). Os mecanismos envolvidos neste benefício têm gerado muita discussão e provavelmente englobam uma série de fatores. Embora controverso, alguns autores postulam que a melhora da capacidade física em pacientes treinados possa ser de origem cardíaca, através da melhora do débito cardíaco ao exercício físico máximo (Hambrecht, Niebauer et al. 1995) e das medidas ventriculares analisadas pelo ecocardiograma (Giannuzzi, Temporelli et al. 2003). Contudo, estes achados não têm sido constantes em todos os estudos, sugerindo que o

principal benefício do treinamento físico esteja relacionado à modulação periférica (Jette, Heller et al. 1991; You Fang and Marwick 2003).

Entre os fatores que limitam a tolerância ao exercício em pacientes com IC, a perda da capacidade vasodilatadora periférica tem grande importância. Esta dificuldade possui inúmeras causas, mas o sistema nervoso simpático, o sistema renina-angiotensina-aldosterona e a produção endotelial de NO são os principais responsáveis. A administração de acetilcolina após um programa de seis meses de atividade física foi responsável pela melhora do fluxo da artéria femoral em pacientes com IC, sugerindo que este incremento fosse conseqüente da restauração da função endotelial. Paralelamente ao restauro do fluxo periférico, houve um ganho na capacidade funcional destes indivíduos (Hambrecht, Fiehn et al. 1998). A melhora do fluxo endotélio-dependente através do exercício físico é causada por uma maior biodisponibilidade do NO. O exercício físico através da força de cisalhamento causada pelo sangue nas paredes dos vasos (*shear stress*) aumenta a atividade da eNOS, com conseqüente aumento de produção do óxido nítrico (Sessa, Pritchard et al. 1994). A degradação do NO também se encontra atenuada, uma vez que a prática regular de atividades físicas aumenta a superóxido dismutase (SOD) que impede a conversão de NO para peroxinitrito através da diminuição dos radicais livres (Fukai, Siegfried et al. 2000).

Porém para outros autores, a incapacidade vasodilatadora endotélio-dependente não é o principal fator de vasoconstrição em pacientes com IC, sugerindo que esta disfunção seja de origem multifatorial (Negrao, Hamilton et

al. 2000). Entre os elementos responsáveis pela vasoconstrição crônica em pacientes com IC, destaca-se também a hiperatividade do tônus simpático (Middlekauff, Nitzsche et al. 2000), que associado ao fluxo periférico reduzido, confere um mau prognóstico aos pacientes com IC. Indivíduos com IC avançada submetidos a um programa de atividade física por quatro meses apresentaram queda da hiperatividade simpática com conseqüente aumento do fluxo periférico e da capacidade funcional (Roveda, Middlekauff et al. 2003). Esta remodelação autonômica com o treinamento físico foi descrita também por Coats (1992) e Adamopoulos (1995) utilizando a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e frequência como medida do balanço simpato-vagal.

A explicação para este efeito pode ser encontrada na melhora do controle barorreflexo com o exercício físico. Em modelos animais com IC, o treinamento melhorou a sensibilidade do barorreflexo, com conseqüente diminuição do tônus simpático e melhora do controle vagal (Liu, Kulakofsky et al. 2002). Semelhantemente ao controle barorreflexo, os receptores cardiopulmonares, que também se encontram com a sua sensibilidade deprimida na IC, apresentaram melhora com o exercício físico (Pliquett, Cornish et al. 2003). Porém, para haver a persistência das respostas autonômicas, é necessária a continuidade do treinamento. Em indivíduos com IC que interromperam de forma programada a atividade física, ocorreu a reversão dos benefícios autonômicos ganhos anteriormente (Coats, Adamopoulos et al. 1992).

Em suas formas iniciais, a insuficiência cardíaca é caracterizada por uma desproporção entre o consumo muscular periférico e o seu respectivo fluxo sanguíneo. Ao longo do tempo, a redução crônica da perfusão sangüínea irá induzir a musculatura periférica à alterações histológicas e bioquímicas características. Neste estágio, mesmo com o restabelecimento artificial do fluxo sangüíneo com a administração de inotrópicos positivos, haverá a persistência das alterações metabólicas, comprovando o envolvimento da musculatura periférica na perpetuação da IC (Clark, Newman et al. 1998). O treinamento físico é capaz de reverter muitas destas alterações da musculatura periférica. Quando realizado por seis meses, ocorre aumento da capacidade oxidativa mitocondrial da musculatura periférica (Hambrecht, Niebauer et al. 1995; Tyni-Lenne, Gordon et al. 1997) , com a mudança na predominância das fibras musculares, de tipo II (baixa capacidade aeróbica) para tipo I (alta capacidade aeróbica) (Hambrecht, Fiehn et al. 1997). Esta alteração ajuda a justificar a menor produção de lactato na periferia de pacientes treinados, conforme evidenciado pelo pioneiro estudo de Sullivan no final da década de 80 (Sullivan, Higginbotham et al. 1988). Ainda existe certa discordância sobre a readaptação muscular em pacientes com IC treinados, como defendido por Larsen e col. Em seu estudo não se evidenciou o aumento na proporção das fibras tipo I em pacientes com IC submetidos a três meses de treinamento, contudo, ocorreu um incremento no interstício muscular, devido a provável desenvolvimento dos capilares musculares. De forma semelhante a outros autores, neste estudo os pacientes com IC demonstraram atrofia muscular periférica, com diminuição da

proporção das fibras tipo I. Esta atrofia, por sua vez, relacionou-se com os valores séricos de IL-6, sugerindo que esta citocina pudesse estar envolvida no processo de catabolismo muscular periférico. (Larsen, Lindal et al. 2002).

B. HIPÓTESE: INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, EXERCÍCIO FÍSICO E INFLAMAÇÃO

Descrevemos acima alguns aspectos importantes da fisiopatologia da IC, principalmente aqueles relacionados aos fenômenos inflamatórios. Fica claro, também pelo exposto acima, que o exercício físico é um adjuvante indispensável ao tratamento desses pacientes. O que não está ainda esclarecido é se o exercício exerce seus benefícios através de uma modulação negativa do processo inflamatório cardiovascular.

Com o conhecimento de que as citocinas não são apenas marcadores prognósticos, mas proteínas envolvidas no processo da disfunção ventricular, alguns autores têm utilizado estas substâncias como objetivo de pesquisa sobre o benefício do treinamento físico em pacientes com IC. Os resultados têm se mostrado discordantes. Estudos iniciais demonstraram uma queda do TNF- α associada a uma melhora da capacidade funcional após três meses de treinamento físico (LARSEN, 2001). Resultado semelhante foi obtido por Adamopoulos (2002), que também concluiu que a IL-6 e seus receptores decresceram após doze semanas de condicionamento físico.

Por outro lado, outros autores não têm conseguido demonstrar qualquer efeito do treinamento no perfil das citocinas séricas. Gielen (2003), por exemplo, não demonstrou redução nos níveis séricos de TNF- α , IL-6 e IL-1 ocorreu uma queda muscular destes marcadores (Gielen, Adams et al. 2003),

Conraads observou após quatro meses de treinamento uma redução nos receptores de TNF- α (TNFR1 e TNFR2), mas nenhuma alteração dos níveis séricos de TNF- α e IL-6 (Conraads, Beckers et al. 2002). Acreditamos que as citocinas, isoladamente, não sejam marcadores adequados a se avaliar a progressão da doença cardiovascular. Assim, propusemos a hipótese que o exercício físico age na fisiopatologia da IC modulando negativamente vias de sinalização pró-inflamatória, como aquela representada pelo receptor de membrana CD40 e seu ligante, CD40L, ou modulando positivamente vias com ação anti-inflamatória, como a dos PPARs.

Para comprovar nossa hipótese, submetemos pacientes com diagnóstico de IC a um treinamento físico durante 4 meses e a atividade dessas vias de sinalização foram avaliadas.

C. OBJETIVOS

C.1. GERAL

Avaliar o efeito do treinamento físico sobre o quadro clínico de pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca crônica e determinar se existe correlação entre a evolução clínica e os marcadores de atividade inflamatória.

C.2.ESPECÍFICOS

C.2.1. Avaliar a tolerância de pacientes com insuficiência cardíaca a um programa de treinamento físico que inclua exercícios aeróbios

C.2.2. Determinar o efeito desse programa de treinamento físico na evolução do quadro clínico dos pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca

C.2.3. Determinar o efeito desse programa de treinamento físico sobre os parâmetros anatômicos e funcionais do coração, medidos através de ecocardiograma

C.2.4. Avaliar o efeito desse programa de treinamento físico no perfil de citocinas pró-inflamatória circulantes: TNF- α e IL-6 em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca

C.2.5. Avaliar o efeito desse programa de treinamento físico na expressão de CD40 e CD40L solúvel em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca

C.2.6. Avaliar o efeito desse programa de treinamento físico na expressão dos fatores de transcrição com efeito anti-inflamatório PPARs α / γ em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca

D. CASUÍSTICA E MÉTODOS

D.1. COMISSÃO DE ÉTICA

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para a Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 24.08.06 sob o Protocolo de Pesquisa de n. 325/06.

D.2. SELEÇÃO

Foram recrutados 18 pacientes com insuficiência cardíaca provenientes do Ambulatório de Especialidades de Vila Prudente, selecionados pelo Dr. Clóvis Frimm e posteriormente encaminhados aos nossos cuidados. O diagnóstico inicial foi feito através de exame clínico e da presença de disfunção ventricular, avaliada pelo ecocardiograma, com a padronização do método de Simpson para o cálculo da fração de ejeção.

D.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos os pacientes incluídos no estudo tinham diagnóstico de miocardiopatia dilatada, independente da etiologia. Os pacientes deveriam estar em classe funcional II , e obrigatoriamente apresentavam-se estáveis do ponto

de vista clínico. Estabilidade foi considerada como manutenção do quadro clínico e da classe funcional, sem mudança de medicação por, pelo menos, 3 meses.

D.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram considerados como inaptos para o projeto de pesquisa aqueles que apresentavam angina instável ou infarto agudo do miocárdio e revascularização prévia recentes (menos de seis meses), IC descompensada, hipertensão arterial sistêmica e hipercolesterolemia descontroladas e alterações neurológicas ou ortopédicas incapacitantes. Também foram excluídos pacientes que realizavam exercício físico regularmente.

Tabela 1 - Características físicas e funcionais, etiologia e medicação dos pacientes com insuficiência cardíaca incluídos no protocolo.

<u>Variáveis</u>	<u>Grupo Controle (n=9)</u>	<u>Grupo Treino (n=9)</u>
Homem / mulher	4/5	5/4
Idade	60±4,81	54±2,93
IMC	27,70±1,34	28,34±1,12
FEVE	37±0,02	38±0,01
NYHA CF (II)	9	9
<u>Etiologia</u>		
HAS	6	7
Chagas	1	1
Tóxica	0	1
DM	3	4
DAC	3	3
<u>Medicação</u>		
IECA	5	5
Beta-bloqueador	6	7
Diurético	9	9
Anti-coagulante	2	2
Digital	4	2
Estatina	0	2
Hipoglicêmico oral	0	2

D.5. SELEÇÃO DOS GRUPOS

Após os pacientes serem informados, sobre todos os procedimentos relativos ao protocolo de pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os mesmos foram divididos por randomização na sequência em dois grupos: o primeiro, com 09 pacientes e submetidos ao programa de treinamento físico; o segundo, composto por 09 pacientes com IC que permaneceram sedentários (grupo controle).

D.6. SEGUIMENTO

Todos os indivíduos foram acompanhados ambulatorialmente durante o estudo, com retornos mensais e orientados a entrar em contato com o pesquisador principal em caso de internação hospitalar ou piora clínica.

D.7. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

D.7.1. COLETA DE SANGUE PARA DOSAGEM DE IL-6, TNF- α , CD40/CD40L, PPAR α E γ

Após a inclusão no protocolo através da adesão ao termo de consentimento livre e esclarecido, o paciente foi conduzido ao laboratório para

coleta de sangue. Foram coletados 20 mililitros de sangue em veia periférica, o sangue de cada paciente foi dividido em duas alíquotas: uma delas foi centrifugada e o plasma armazenado para dosagem de IL-6, CD40L e TNF- α pelo método ELISA e os elementos figurados foram utilizados na determinação do mRNA para os PPARs e CD40. O sangue coletado foi armazenado em uma caixa de isopor contendo gelo e encaminhado para o LIM 51. Realizada a coleta, o paciente foi encaminhado para o laboratório para avaliação da capacidade cardiorrespiratória.

D.7.2 PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO

Após as avaliações iniciais, os pacientes do grupo Treino foram submetidos a um período de quatro meses de treinamento na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração, com prescrição individual para a prática do exercício, conforme resultados do teste ergoespirométrico, com uma frequência de três sessões semanais e duração de 60 minutos assim distribuídos:

- 05 minutos de alongamento
- 40 minutos de exercício aeróbio (cicloergômetro)
- 15 minutos de exercícios de resistência

A intensidade foi calculada, variando entre o limiar aeróbio e o ponto de compensação respiratória (10% acima do limiar aeróbio), sendo aferida pela frequência cardíaca.

D.7.3. TESTE ERGOESPIROMÉTRICO

Escolheu-se o teste em cicloergômetro magnético (Medfit 400 L, Medical Fitness Equipment, Maarn, Netherlands), conforme protocolo de rampa com incrementos de carga de 5-10 W/min até a exaustão. A monitorização cardíaca foi realizada por eletrocardiógrafo de 12 derivações simultâneas. A pressão arterial foi aferida manualmente em esfigmomanômetro de mercúrio por método auscultatório a cada dois minutos durante o esforço, e na recuperação até o sexto minuto. A avaliação dos gases respiratórios foi realizada de forma automática em sistema computadorizado (SensorMedics, modelo Vmax 229, Buena Vista, CA, USA), com mensuração das concentrações expiratórias de oxigênio e dióxido de carbono através de sensores específicos. A cada expiração do paciente calculou-se a ventilação pulmonar (VE). A concentração expiratória de oxigênio ao esforço máximo permitiu o cálculo do consumo máximo de oxigênio (VO_2 pico). A produção de dióxido de carbono (VCO_2) foi medida por um analisador infravermelho e as trocas eram analisadas a cada ciclo respiratório. O limiar anaeróbico foi calculado pelo menor valor da pressão parcial de oxigênio no final da expiração ($P_{et}O_2$) antes de seu incremento e

pela técnica do *V-slope* (ponto em que ocorre a perda da linearidade entre o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono). O ponto de descompensação respiratório (PDR) foi determinado pelo maior valor da pressão parcial de CO₂ (PetCO₂) antes que o mesmo iniciasse uma queda progressiva..

D.7.4. TRANSCRIÇÃO REVERSA – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – RTPCR

O RNA total foi extraído com 1 ml Trizol (Invitrogen) em células mononucleares. O material foi incubado por 5 minutos a temperatura ambiente. Em seguida foram adicionados 200 µl de clorofórmio (Merck), os tubos foram agitados e incubados por 3 minutos a temperatura ambiente. Seguiu-se a centrifugação do material a 4° C por 15 minutos a 12000g. O sobrenadante foi transferido para outro tubo onde foram adicionados 500 µl de isopropanol gelado. Após incubar por 10 minutos, as amostras foram centrifugadas a 4° C por 10 minutos a 12000g. O sobrenadante foi desprezado e o *pellet* foi reconstituído em 50 µl de água com 0,1% de Dietilpirocarbonato (Sigma). A partir de 1µg de RNA total, o cDNA foi sintetizado com 1µl de transcriptase reversa Impron II (Promega) ; 1µl de Oligo dT (0,5 ug/ul – Promega); 1 µl de dNTP (10mM – Invitrogen); 6µl de buffer 5X; 0,5 µl de RNAsin (Promega); 2,4

μl de Cloreto de magnésio (25mM). A reação foi incubada em termociclador MJ Research PTC-200 por 50 minutos a 42° C e 70°C por 15 minutos. Após a síntese de cDNA fez-se uma reação de PCR para amplificação de rRNA (RNA ribossomal) como controle positivo e teste de viabilidade de cada amostra.

O RNAm foi amplificado em reação de PCR com 25 μl de volume total com 17,75 μl de água deionizada estéril; 2,5 μl de tampão 10X (Invitrogen); 1 μl de cloreto de magnésio a 50 mM (Invitrogen); 0,5 μl de dNTPs 10 mM; 1 μl de cada primer a 10 pmol/ μl (Invitrogen); 0,25 μl de Taq polimerase (Invitrogen) e 1 μl de cDNA em termociclador PTC 200 MJ Research. Todas as reações foram acompanhadas de um controle negativo para eliminar uma possível contaminação da reação. Para a avaliação da amplificação, os produtos de PCR foram submetidos à eletroferese em agarose a 1% corado com brometo de etídeo (Horizon® - Life Technologies). Todas as amostras foram normalizadas com a amplificação do gene rRNA. Os dados foram plotados em função Log_{10} da densidade óptica (DO) do gene de interesse dividido pelo Log_{10} da DO do rRNA .

Foram utilizados os seguintes primers e condições de ampliação:

1. GAPDH

sense: GGTGGTCTCCTCTGACTTCAACA;

antisense: GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT;

35 ciclos; 95°C 30 segundos; 64°C 30 segundos; e extensão de 72°C 40 segundos, gerando um produto de 127 pb.

2. CD40

sense: TGCCAGCCAGGACAGAAACT;

anti-sense: GGGACCACAGACAACATCAG;

26 ciclos; 92°C 3 minutos, 94°C 30 segundos, 65,2°C 1 minuto e extensão 72°C 30 segundos, gerando um produto de 191 pb

3.PPAR α

sense: GTTTGAGGGGGTAAACAGCAA;

anti-sense: GCTAACTGCAGAGGGTGAG,

45 ciclos, 95°C por 30 segundos, 64°C por 30 segundos e 72°C por 40 segundos, gerando um produto de 247 pb.

4.PPAR γ

sense:CATTCTGGCCCACCAACTTTGG,

anti-sense: TGGAGATGCAGGCTCCACTTTG,

35 ciclos, 95°C por 30 segundos, 64°C por 30 segundos e 72°C por 40 segundos, gerando um produto de 229 pb.

D.7.5. QUANTIFICAÇÃO DE TNF- α , IL-6 E CD40L

As citocinas TNF- α , IL-6 e CD40L foram dosadas em plasma dos pacientes. As dosagens foram feitas por ELISA, com kit da R&D Systems.

Placas de 96 poços foram adsorvidas com anticorpo de captura monoclonal anti-TNF- α , anti-IL-6 e anti-sCD40L recombinante humano, por 12 horas. Em seguida, as placas foram lavadas com solução PBS contendo 0,05% de Tween 20. Os sítios livres do plástico foram bloqueadas com PBS contendo 10% de soro fetal bovino (Gibco) para TNF- α , IL-6 e 1% de BSA (albumina sérica bovina, Sigma) para sCD40L, por uma hora. A placa foi lavada para remoção da solução de bloqueio. Em seguida, as amostras e os padrões foram colocados nos respectivos poços e incubados por 2 horas. As placas foram lavadas novamente. Ao final das lavagens, adicionou-se o substrato da peroxidase, tetrametilbenzidina, deixando agir por 15 a 20 minutos. A reação peroxidase-tetrametilbenzidina, gerou cor azul. Ao final da incubação, adicionou-se solução de parada (H₂SO₄ - 2N), obtendo-se coloração amarela. As citocinas foram quantificadas pela leitura de absorbância (450 nm) e os resultados foram expressos em picogramas de antígeno por miligrama de proteína.

D.7.6. ECOCARDIOGRAMA NO ESTADO BASAL

Os estudos ecocardiográficos transtorácicos foram realizados no Instituto do Coração, Departamento de Ecocardiografia pelo Dr. João Manuel T. Santos, com aparelho Sonos 7500, da Philips Medical Systems (Bothell, WA, USA), equipado com transdutor de banda larga S3 (1.8 - 3.6) MHz, utilizando-se os planos para-esternal longitudinal, paraesternal transverso, apical quatro câmaras, apical duas câmaras e apical três câmaras. Todas as imagens foram gravadas em fita VHS e em disco óptico, para serem, posteriormente, analisadas por mais um examinador independente.

D.7.6.1. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SISTÓLICA DO VE

A função sistólica do ventrículo esquerdo foi avaliada pelo índice do escore de contratilidade segmentar (IECS), e pela Fração de Ejeção calculada pelo método de Simpson.

A avaliação da motilidade regional da parede (Fig. 1) é realizada a partir de um sistema numérico em que é dada uma pontuação da contratilidade segmentar para cada um dos 17 segmentos do ventrículo esquerdo, segundo recomendações do *Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association 2002*, (Cerqueira, Weissman et al. 2002) onde:

1= normal

2= hipocinesia

3= acinesia

4= discinesia

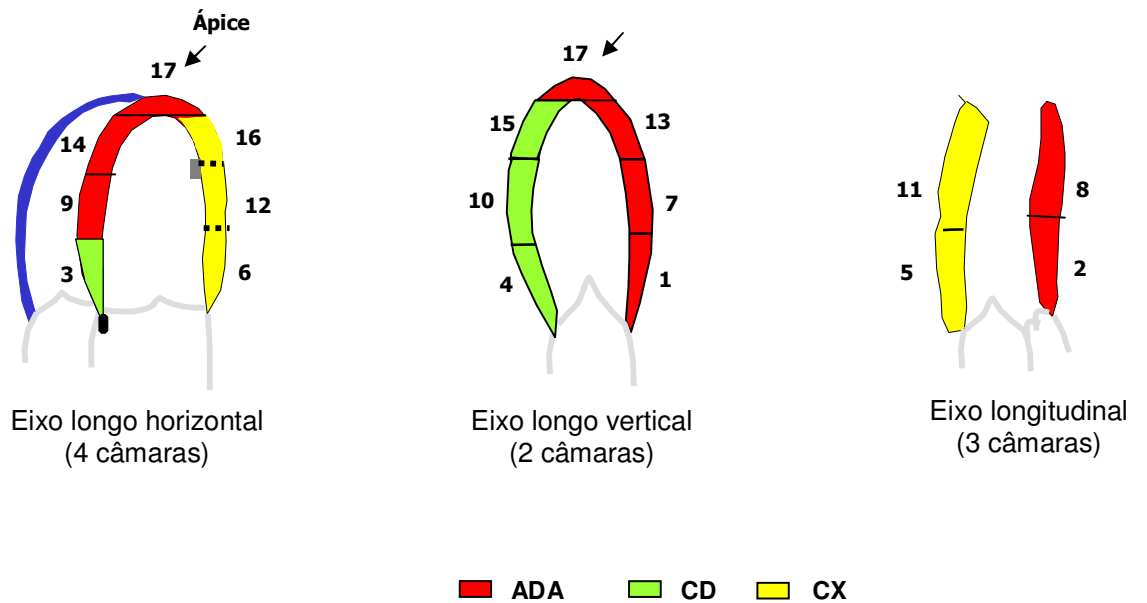


Fig. 1: Plano apical 4, 2 e 3 Câmaras, com divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos, e suas correspondências com a irrigação coronariana.

O IECS é calculado pela soma da pontuação dos segmentos dividida pelo número total de segmentos visibilizados:

$$\text{IECS} = \frac{\text{soma dos scores de motilidade}}{\text{número de segmentos visibilizados}}$$

Valor normal = 1

1,1 – 1,5 = disfunção leve do VE

1,6 – 2,0 = disfunção moderada do VE

≥ 2,1 = disfunção importante do VE

Os volumes ventriculares foram medidos a partir das dimensões e da área obtidas de imagens apicais ortogonais, pelo exame bidimensional, nos planos apical duas câmaras e apical quatro câmaras em que o ventrículo esquerdo (VE) é dividido em vários cilindros de alturas semelhantes, permitindo o cálculo da FEVE pelo método de Simpson modificado (Fig. 2).

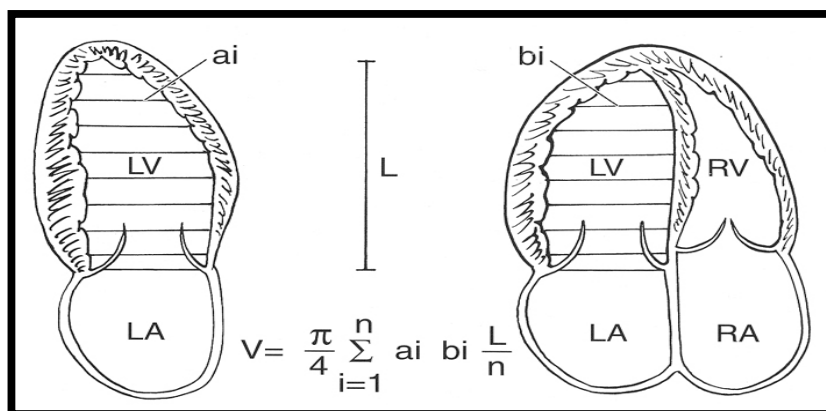


Fig. 2: cálculo dos volumes do ventrículo esquerdo pelo Método de Simpson.

Este método é mais adequado quando existe: Alteração da contratilidade segmentar do VE e alteração na geometria do ventrículo esquerdo.

Considerou-se anormal FEVE menor que 55%.

D.7.6.2. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DIASTÓLICA DO VE

A função diastólica do ventrículo esquerdo foi avaliada pelo Doppler pulsado, medindo-se a velocidade do fluxo mitral no plano apical 04 câmaras, com o tamanho de amostra fixado em 2 mm e posicionado adjacente às extremidades das cúspides da valva mitral em diástole. Foram analisados a velocidade diastólica de pico precoce (onda E), a velocidade diastólica de pico tardio (onda A), e a razão entre elas.

Adicionalmente foi realizado Doppler Tecidual do anel mitral, cuja curva espectral demonstra uma onda acima da linha de base (positiva), que representa a velocidade de contração sistólica (onda Sa) e duas ondas diastólicas abaixo da linha de base (negativas), a velocidade diastólica de pico precoce miocárdica (onda Ea) e a velocidade diastólica de pico tardio (onda Aa), a razão entre elas Ea/Aa. Também foi calculada a razão E/Ea.

A velocidade Ea diminuída, com razão entre as velocidades $Ea/Aa < 1$ é um indicador de disfunção diastólica e, a razão das velocidades E/Ea quando menor que 10, traduz função diastólica normal, e quando maior que 10, traduz disfunção diastólica .

Baseado nas medidas do Doppler, cinco padrões de velocidade do fluxo mitral foram definidos: o padrão normal, caracterizado por razão das velocidades E/A entre 1 e 2; o padrão de alteração de relaxamento, caracterizado por razão das velocidades E/A menor que 1; padrão pseudo-

normal, caracterizado por razão das velocidades E/A entre 1 e 2, com razão das velocidades E/Ea maior que 10 ou razão das velocidades E/A entre 1 e 2 e reversível para menor que 1 após manobra de Valsalva; padrão restritivo reversível, caracterizado pela razão das velocidades E/A maior que 2 e com redução da diferença das velocidades reversível por manobra de Valsalva, razão das velocidades E/Ea maior que 10; e padrão restritivo irreversível, caracterizado pela razão das velocidades E/A maior que 2 e sem redução da diferença das velocidades após manobra de Valsalva, com razão das velocidades E/Ea maior que 10.

Os pacientes foram avaliados clinicamente e submetidos aos exames laboratoriais. Todos os pacientes tiveram retornos ambulatoriais mensais, com contatos telefônicos em caso de intercorrências clínicas. Após quatro meses de andamento no protocolo, repetiu-se a avaliação laboratorial em ambos os grupos.

E. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram descritas através dos valores mínimo, máximo, mediana, média, desvio padrão e erro padrão.

Os grupos controle e treino foram comparados com relação às variáveis antes e após a intervenção através da análise de variância para medidas repetidas não-paramétrica (Akritas, M.G. and Arnold, S.F,1994) ou para dados

com distribuição Normal (TIMM, N.H. 1975). A verificação da distribuição Normal dos dados foi realizada utilizando-se os testes de Shapiro-Wilks e Anderson-Darling e o gráfico de probabilidade Normal dos resíduos da análise de variância para medidas repetidas. Várias transformações foram estudadas na tentativa de normalização das distribuições de algumas variáveis. No entanto, as transformações usuais (logarítmica, quadrática, inversa, raiz quadrada, etc) não foram bem-sucedidas e, portanto, adotou-se uma metodologia não-paramétrica nesses casos.

O *software* estatístico SAS (*Statistical Analysis System*) versão 9.1 e o programa desenvolvido com base na dissertação de mestrado de Rosa ,(Rosa, P. 2001), foram adotados para a realização das análises.

F. RESULTADOS

F.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA E ADERÊNCIA

Todos os 18 pacientes selecionados completaram o estudo.

Nenhum evento cardiovascular foi observado durante esse período em nenhum paciente submetido ao treinamento físico supervisionado. A medicação prescrita foi mantida até o final do estudo em todos os pacientes, sem necessidade de ajustes.

O treinamento físico prescrito durante quatro meses aos pacientes com IC foi eficaz. Como podemos observar na Figura 3, o grupo Treino apresentou aumento significativo de seu consumo de pico de oxigênio ($17,5 \pm 1,4$ vs $21,1 \pm 0,9$ ml/kg/min, Pós vs Pré, respectivamente, $p < 0,05$). O mesmo comportamento não foi observado com o grupo Controle. Esses pacientes, que permaneceram sem treinamento físico, após quatro meses apresentaram consumo pico de oxigênio bastante semelhante aos valores observados antes desse período ($24,8 \pm 1,3$ vs $23,7 \pm 1,3$, Pós vs Pré, respectivamente, $p > 0,05$). A análise estatística dos dados acima mostra uma diferença significativa no comportamento temporal entre os grupos ($p < 0,05$), em relação ao consumo pico de oxigênio.

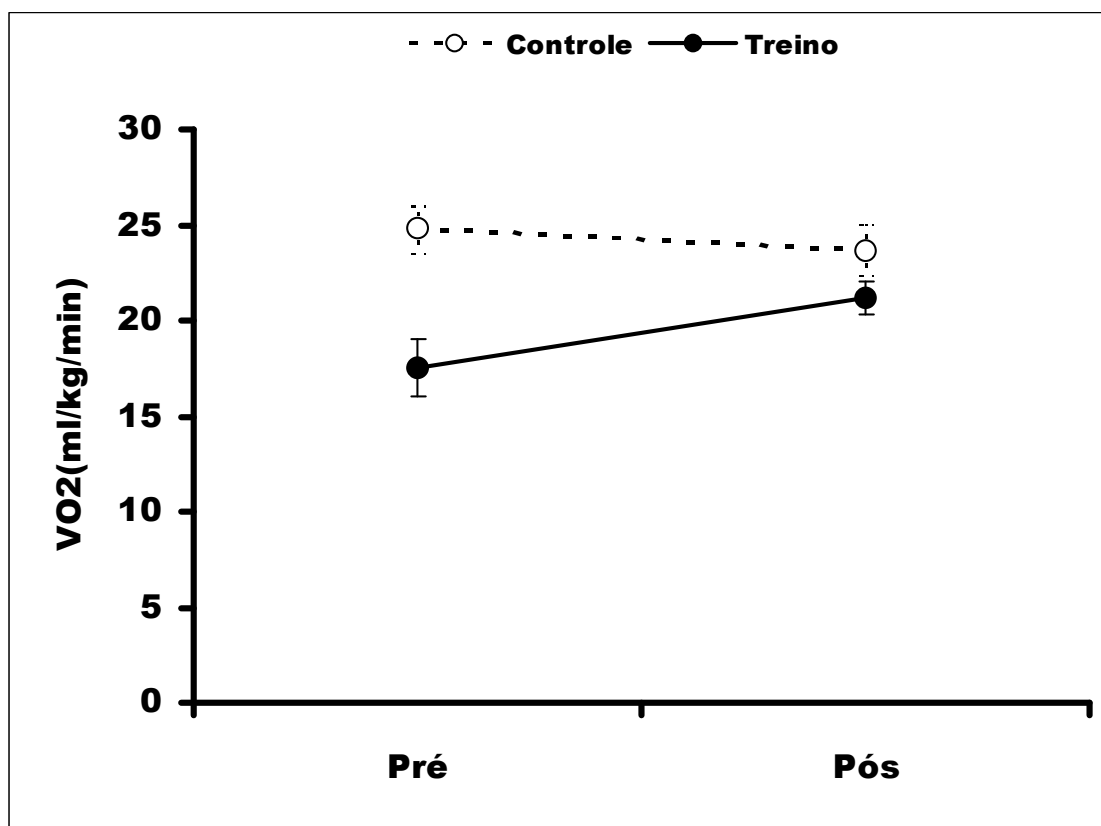


Figura 3: Consumo de oxigênio pico em indivíduos com IC submetidos ao treinamento físico ou controle.

Houve um aumento significativo do consumo de oxigênio no grupo Treino, após os 4 meses do protocolo de treinamento físico enquanto o grupo controle manteve a variável inalterada.

$p < 0,05$, Pós vs Pré no grupo Treino e $p = \text{NS}$, Pós vs Pré no grupo Controle.

F.2. AVALIAÇÃO ANATÔMICA E FUNCIONAL

Com o objetivo de determinar o efeito do treinamento físico na anatomia e função miocárdica, foram mensuradas diversas variáveis obtidas através do ecocardiograma, como mostrado nas Tabela 2 a 4.

Observamos inicialmente que os pacientes arrolados para o estudo apresentavam valores de fração de ejeção muito similares no começo do estudo, valores esses compatíveis com o diagnóstico de insuficiência cardíaca.

Os pacientes do grupo Controle apresentaram, durante o período de duração do estudo, uma queda significativa na fração de ejeção ($36,44 \pm 3,38$ vs $38,00 \pm 3,37$, Pós vs. Pré, respectivamente, $p < 0,05$) ao passo que nos do grupo Treino essa variável não se alterou durante o mesmo período ($39,44 \pm 2,19$ vs. $38,44 \pm 2,05$. Pós vs. Pré respectivamente, $p < 0,05$). A análise desses dados mostra uma diferença significativa no comportamento dos grupos durante o período estudado ($p < 0,05$) (Figura 4)

Em relação ao Volume Diastólico Final (VDF), observamos que, no grupo Controle, os valores ao final do estudo foram similares aos valores iniciais ($247,33 \pm 27,35$ vs. $251,11 \pm 24,92$ ml, respectivamente, $p = \text{NS}$). O treinamento físico não afetou o VDF nos pacientes no grupo Treino, cujos valores foram de $245,44 \pm 20,60$ ml no Pré, para $250,44 \pm 20,76$ ml no período Pós ($p = \text{NS}$) (Figura 5). Achado semelhante foi observado em relação Volume Sistólico Final (VSF). Nos pacientes do grupo Controle, o VSF inicial era de $159,67 \pm 24,98$ ml e

passou a $165,56 \pm 24,37$ ml ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino também não apresentaram alteração mensurável após os quatro meses de treinamento físico ($151,33 \pm 13,24$ vs $151,11 \pm 13,61$, Pós vs. Pré, respectivamente, $p=NS$) (Figura 6).

Os valores medidos para o Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo (DSVE) revelam que não puderam ser detectadas diferenças no grupo Controle ao final dos quatro meses de estudo, comparados aos valores iniciais ($5,06 \pm 0,27$ vs $4,93 \pm 0,27$ cm, Pós vs Pré, respectivamente, $p=NS$). O treinamento físico também não alterou essa variável. Os pacientes do grupo Treino apresentavam um DSVE inicial de $5,03 \pm 0,16$ cm que passou a $5,06 \pm 0,27$ cm ao final do estudo ($p=NS$) (Figura 7).

Resultado semelhante foi obtido quando analisamos o Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo (DDVE). No grupo Controle, o DDVE inicial (Pré) era de $6,09 \pm 0,21$ cm e ao final do estudo, $6,11 \pm 0,29$ cm ($p=NS$). O treinamento físico também não alterou essa variável, que, nesse grupo, era de $6,22 \pm 0,18$ cm no período Pré e passou a $6,27 \pm 0,17$ cm no Pós ($p=NS$) (Figura 8)

Em resumo, a análise dos dados ecocardiográficos relacionados à função sistólica mostra que o treinamento físico exerce um efeito benéfico sobre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo em pacientes com insuficiência cardíaca.

Tabela 2: Dados da anatomia e função sistólica do ventrículo esquerdo.

Variável	Grupo Controle			Grupo Treino			p*
	Pré	Pós	p	Pré	Pós	p	
DDVE (cm)	6,1 ± 0,2	6,1 ± 0,3	ns	6,2 ± 0,2	6,2 ± 0,5	ns	ns
DSVE (cm)	4,9 ± 0,3	5,0 ± 0,3	ns	5,0 ± 0,2	4,9 ± 0,2	ns	ns
Septo (cm)	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	ns	1,0 ± 1,4	1,0 ± 2,4	ns	ns
Parede (cm)	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	ns	1,0 ± 1,4	1,0 ± 2,4	ns	ns
Aorta (cm)	3,1 ± 0,3	3,1 ± 0,3	ns	3,2 ± 0,2	3,3 ± 0,2	ns	ns
Átrio Esquerdo (cm)	4,2 ± 0,3	4,1 ± 0,4	ns	4,2 ± 0,5	4,3 ± 0,4	ns	ns
VDF (ml)	247 ± 27	251 ± 24	ns	245 ± 1	250 ± 20	ns	ns
VSF (ml)	159 ± 24	165 ± 24	ns	151 ± 13	151 ± 13	ns	ns
VS (ml)	87 ± 4	85 ± 3	ns	94 ± 9	99 ± 10	ns	ns
FEVE (%)	38 ± 3	36 ± 3	0,04	38 ± 2	39 ± 2	ns	0,01

*p relacionado à diferença entre Controle vs Treino

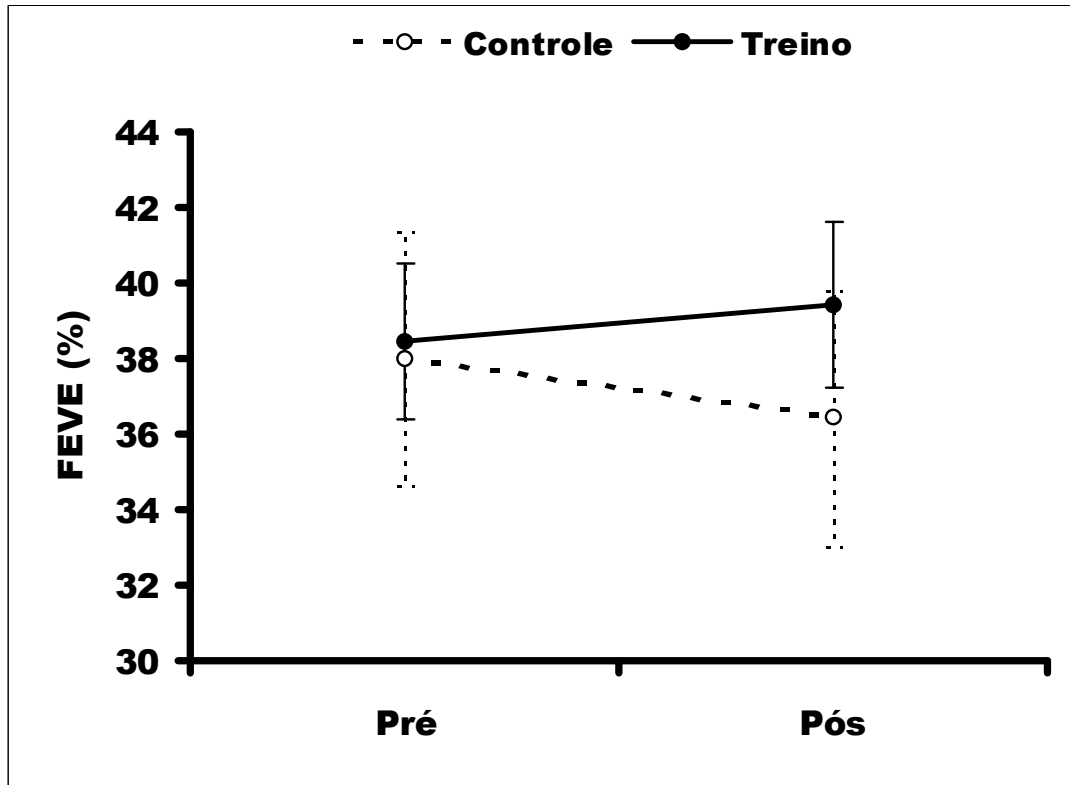


Figura 4: Evolução da Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE) nos grupos Controle e Treino

Observamos uma queda significativa da FEVE nos pacientes do grupo Controle (Pós vs. Pré, $p < 0,05$), enquanto os pacientes submetidos ao treinamento físico mantiveram a FEVE em valores próximos dos medidos no começo do estudo (Pós vs. Pré, $p = \text{NS}$).

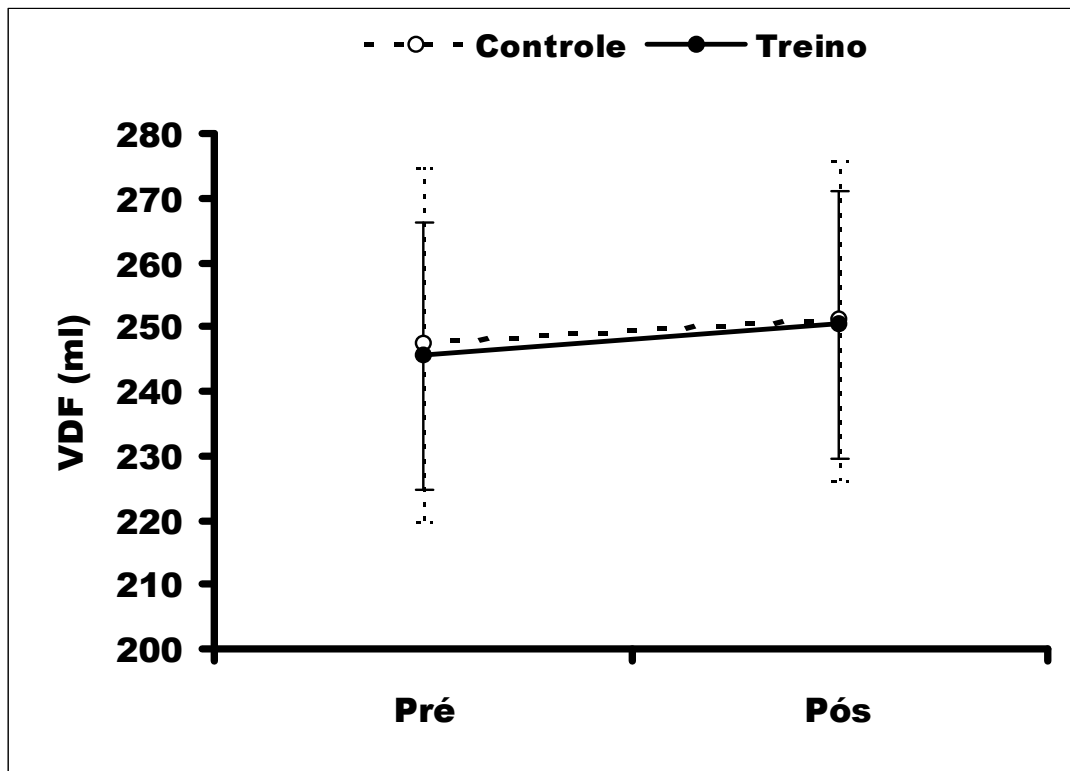


Figura 5: Evolução do Volume Diastólico Final (VDF) nos grupos Controle e Treino .

Pacientes no grupo Controle mantiveram o VDF inalterado durante o período de estudo, o mesmo ocorrendo com os pacientes no grupo Treino ($p=NS$, Pós vs. Pré, em ambos os grupos).

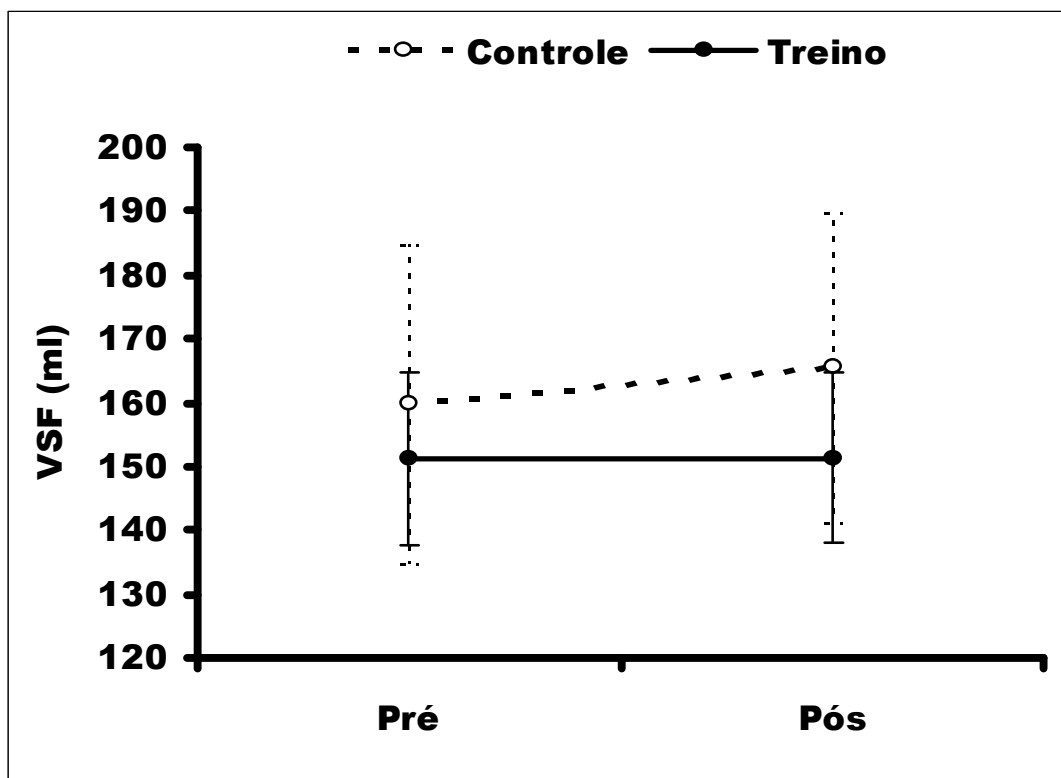


Figura 6: Evolução do Volume Sistólico Final (VSF) nos grupos Controle e Treino.

Não observamos alterações nos valores do VSF nos pacientes de ambos os grupos, quando comparados os valores no início do protocolo de estudo (Pré), com os valores ao final do estudo (Pós).

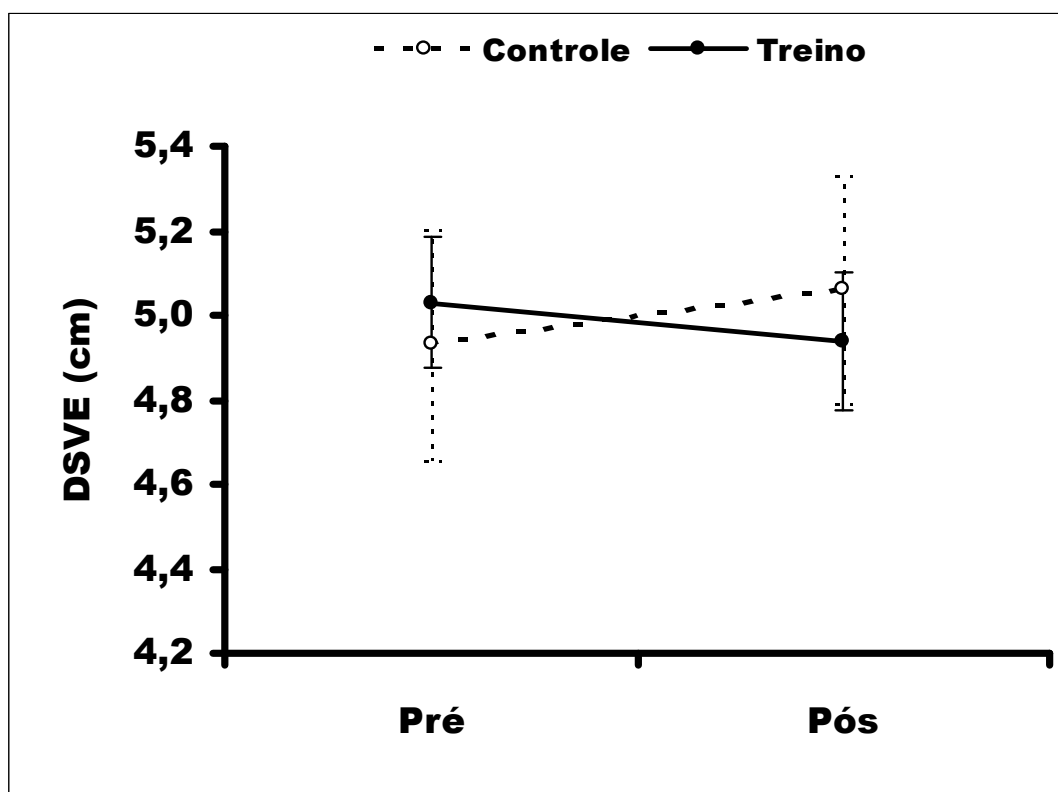


Figura 7: Evolução do Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo (DSVE) nos grupos Controle e Treino.

Nenhuma diferença foi detectada no grupo Controle ou no grupo Treino quando comparamos os valores de DSVE ao final (Pós) do estudo, com os valores iniciais (Pré).

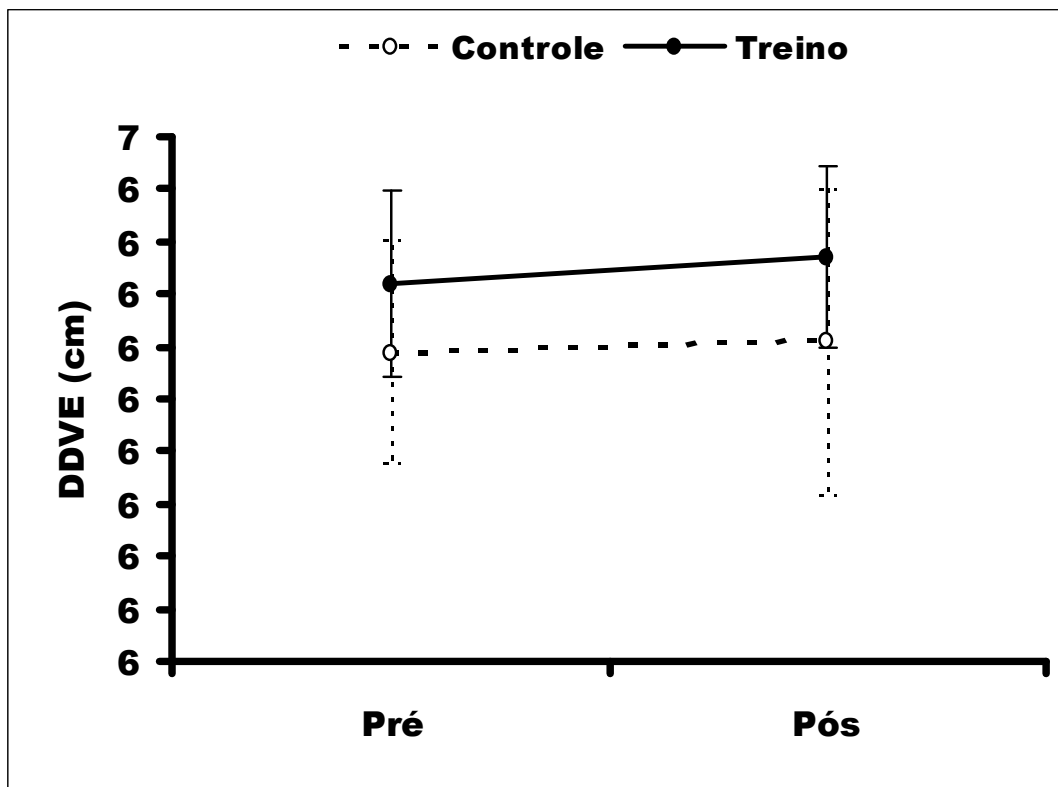


Figura 8: Evolução do Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo (DDVE) nos grupos Controle e Treino.

Nenhuma diferença foi detectada no grupo Controle ou no grupo Treino quando comparamos os valores de DDVE ao final (Pós) do estudo, com os valores iniciais (Pré).

A seguir, foi analisada a função distólica em ambos os grupos, através de múltiplas variáveis ecocardiográficas, como mostrado na Tabela 3.

As medidas da Onda E, referente à velocidade diastólica de pico precoce, mostram que o treinamento físico induziu um aumento significativo dessa variável. Nos pacientes do grupo Treino os valores da Onda E passaram de $59,33 \pm 2,39$ cm/seg para $63,67 \pm 1,00$ cm/seg ($p < 0,05$). Nos pacientes do grupo Controle as medidas da Onda E se mantiveram estáveis durante os quatro meses do estudo ($60,11 \pm 2,39$ vs. $60,89 \pm 2,10$ cm/seg, Pós vs Pré, respectivamente, $p = \text{NS}$) (Figura 9).

Como observado na Figura 10, o treinamento físico causa um efeito inverso na Onda A, que representa a velocidade diastólica de pico tardio. Nos pacientes do grupo Treino, foi medida inicialmente em $68,78 \pm 4,68$ cm/seg e passou a $66,33 \pm 2,59$ cm/seg ao final do estudo ($p < 0,05$). Assim como a onda E, a Onda A não se alterou durante os quatro meses de estudo o grupo Controle ($65,78 \pm 5,89$ vs $66,22 \pm 5,11$ cm/seg, Pós vs Pré, respectivamente, $p = \text{NS}$).

A relação Onda E/A é uma variável relacionada à disfunção diastólica muito utilizada na prática clínica. Podemos observar que a relação E/A permaneceu estável no grupo controle durante os quatro meses do estudo ($1,06 \pm 0,22$ vs. $1,03 \pm 0,19$ cm/seg Pós vs Pré, respectivamente, $p = \text{NS}$), enquanto os pacientes do grupo treino apresentaram um significativo aumento $0,96 \pm 0,18$ vs. $0,98 \pm 0,05$ cm/seg, Pós vs Pré, respectivamente, $p < 0,05$) (Figura 11).

Outra variável medida foi a relação de Onda E/Ea, também indicador de disfunção diastólica. Como observado na Figura 12, essa variável não apresentou diferença quando comparado o Pós com o Pré, tanto no grupo Controle ($10,64 \pm 0,80$ vs $10,12 \pm 0,67$, Pós vs. Pré, respectivamente, $p=NS$) quanto no grupo Treino ($9,88 \pm 0,45$ vs $9,89 \pm 0,77$, Pós vs. Pré, respectivamente, $p=NS$).

Ao final, avaliamos também a velocidade diastólica de pico precoce miocárdica (Onda Ea). Pacientes do grupo Controle apresentaram queda acentuada da Onda Ea ao final dos quatro meses de estudo, quando comparados aos valores iniciais ($6,11 \pm 0,19$ vs $5,76 \pm 0,20$ Pós vs. Pré, respectivamente, $p < 0,05$). Já os pacientes do grupo Treino apresentaram aumento na Onda Ea, quando comparados os valores ao final do treinamento com os valores iniciais ($6,11 \pm 0,22$ vs $6,52 \pm 0,23$ Pós vs. Pré, respectivamente, $p < 0,05$) (Figura 13).

Em conjunto, esses dados nos permitem concluir que o treinamento físico induziu uma melhora da disfunção diastólica, evidenciada por múltiplas variáveis analisadas através do ecocardiograma.

Tabela 3: Dados da anatomia e função diastólica do ventrículo esquerdo

Variável	Grupo Controle			Grupo Treino			* <i>p</i>
	Pré	Pós	<i>p</i>	Pré	Pós	<i>p</i>	
Onda E	60 ± 2	60 ± 2	ns	59 ± 2	63 ± 1	<0,001	<0,001
Onda A	66 ± 5	66 ± 6	ns	68 ± 5	66 ± 3	0,004	0,01
E/A	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,06	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	<0,001	<0,001
E/Ea	10,1 ± 0,7	10,6 ± 0,8	ns	9,9 ± 0,8	9,9 ± 0,5	ns	ns
Ea	6,1 ± 0,2	5,8 ± 0,2	0,002	6,1 ± 0,2	6,5 ± 0,2	<0,007	<0,001

**p* relacionado à diferença entre Controle vs Treino

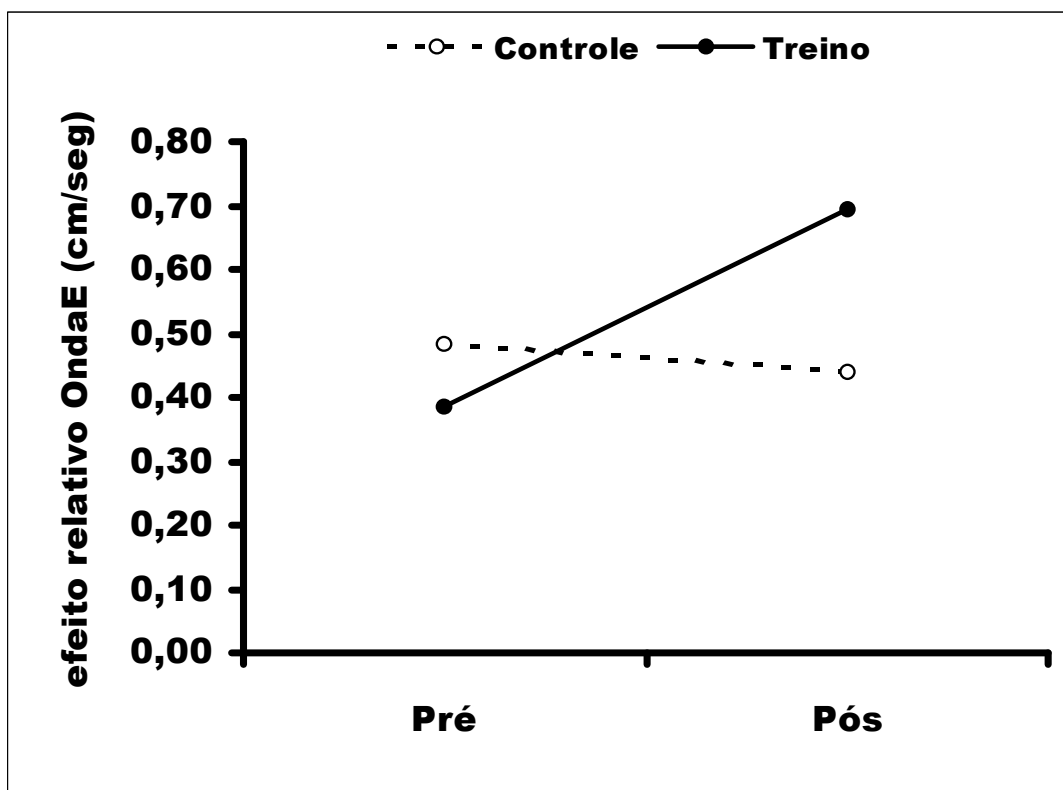


Figura 9: Evolução da Onda E nos grupos Controle e Treino.

No gráfico observamos a significativa melhora dos valores da Onda E nos pacientes submetidos ao treinamento físico ($p < 0,5$, Pós vs Pré) enquanto esses valores permanecem inalterados no grupo Controle.

Os valores da Onda E foram representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

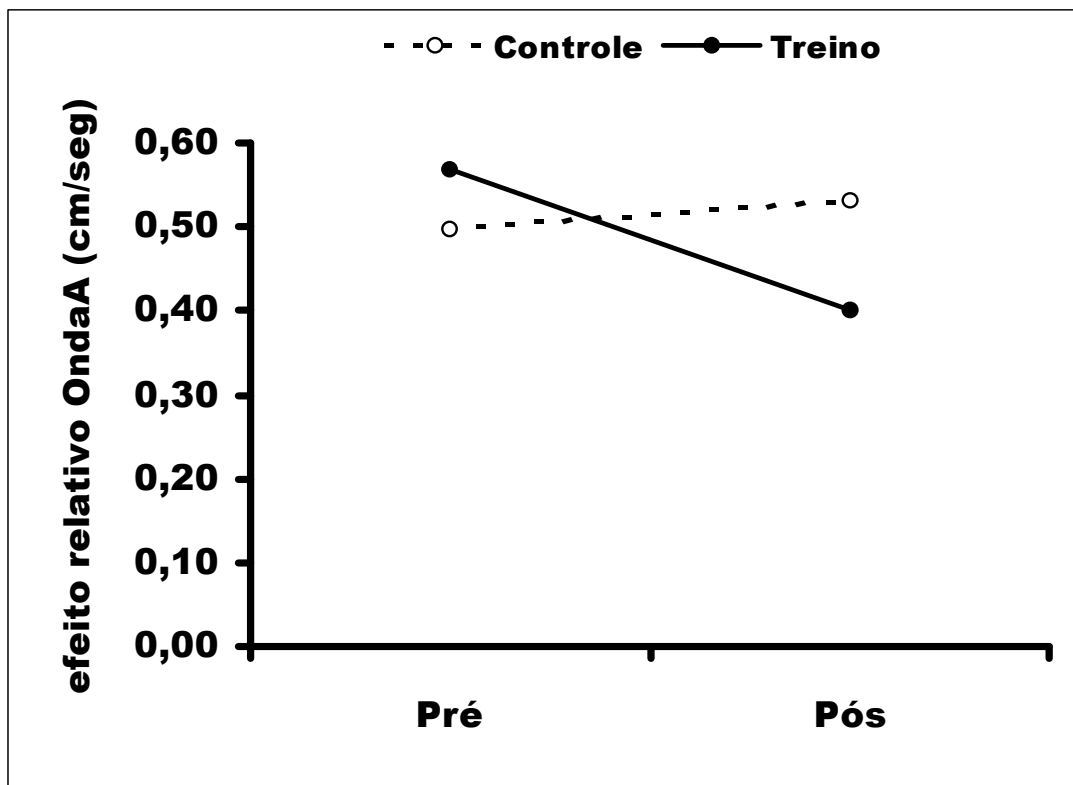


Figura 10: Evolução da Onda A nos grupos Controle e Treino.

No gráfico observamos uma diminuição significativa dos valores da Onda A nos pacientes submetidos ao treinamento físico ($p < 0,5$, Pós vs Pré) enquanto esses valores permanecem inalterados no grupo Controle.

Os valores da Onda A estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

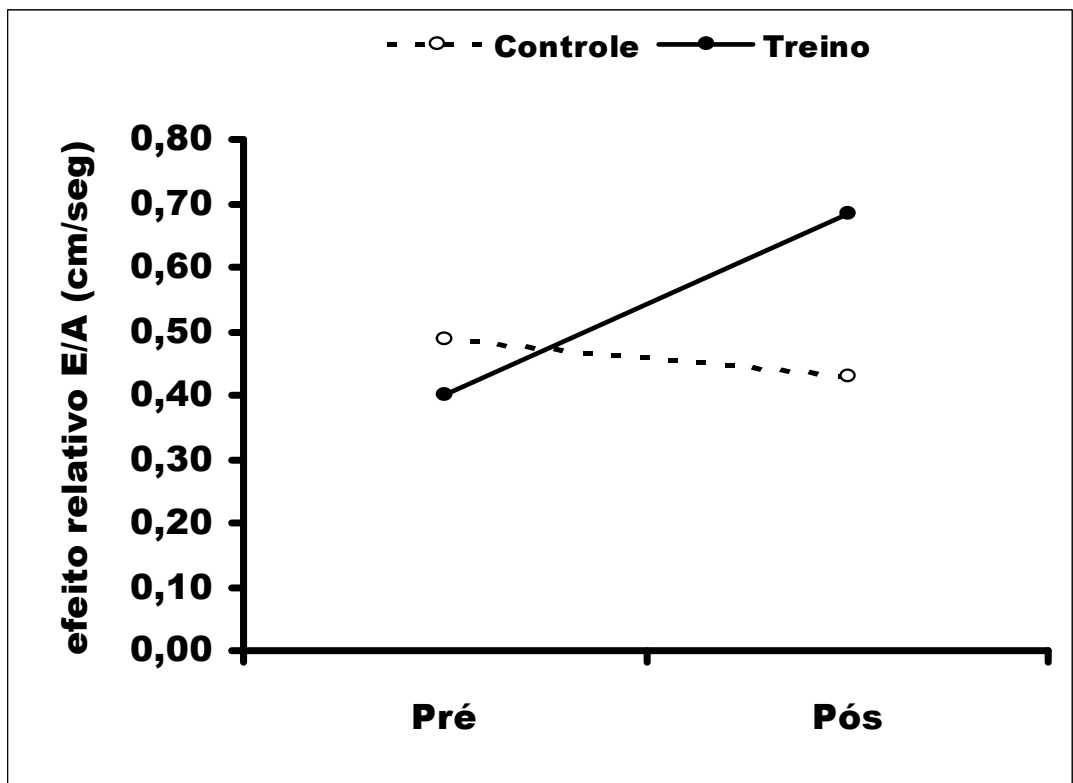


Figura 11: Evolução da Relação OndaE / Onda A nos grupos Controle e Treino. No gráfico observamos uma diminuição significativa melhora dos valores da Onda A nos pacientes submetidos ao treinamento físico ($p < 0,5$, Pós vs Pré) enquanto esses valores permanecem inalterados no grupo Controle. Os valores da Onda E / Onda A estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

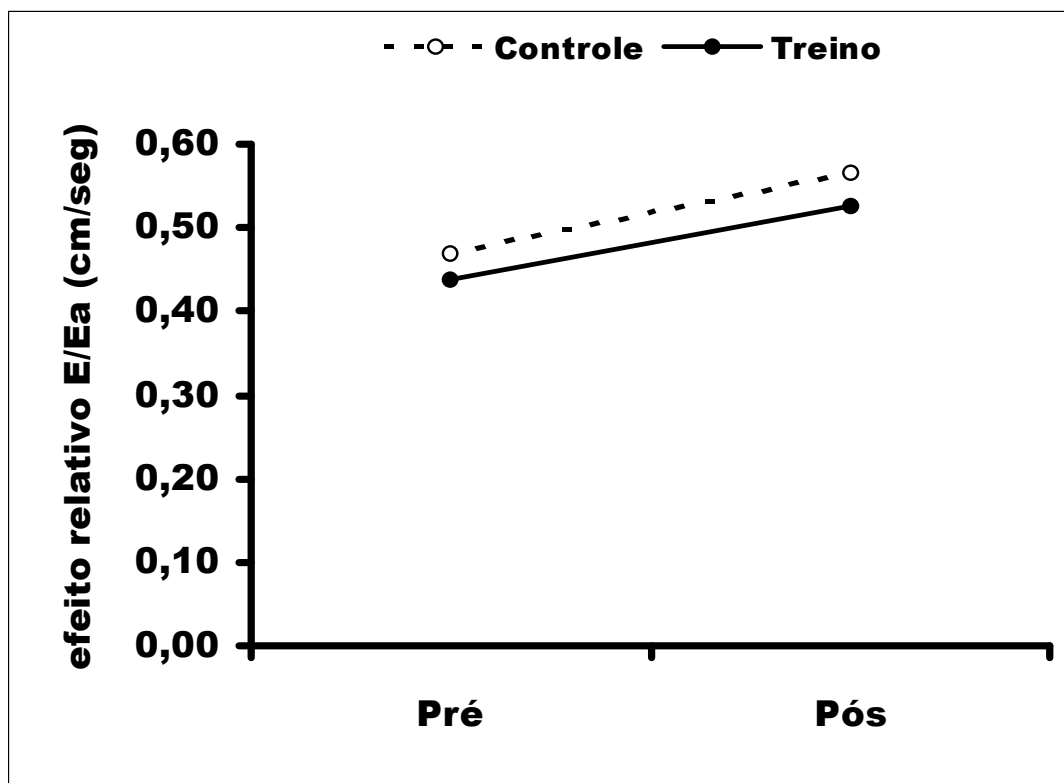


Figura 12: Evolução da Relação Onda E / Onda Ea nos grupos Controle e Treino.

Não observamos nenhuma alteração significativa dos valores da Relção E/Ea tanto nos nos pacientes submetidos ao treinamento físico quanto nos do grupo Controle.

Os valores da relação Onda E / Onda Ea foram representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

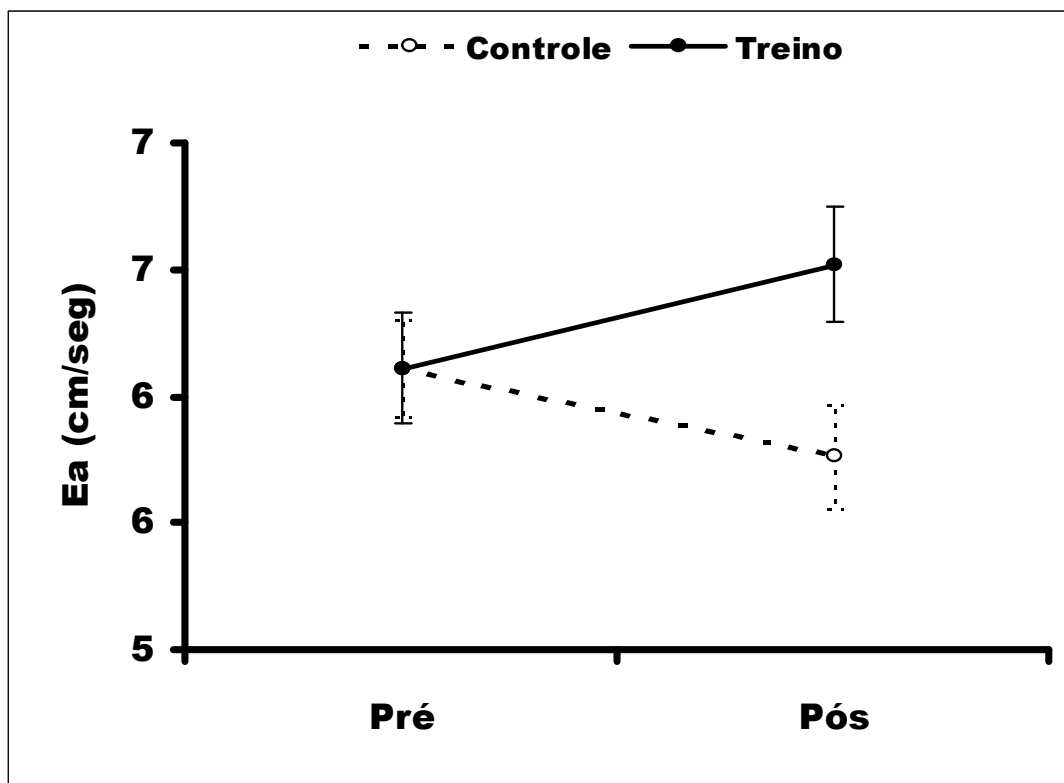


Figura 13: Evolução da Relação Onda Ea nos grupos Controle e Treino.

Foi detectada uma queda significativa da Onda Ea ao final do estudo no grupo controle, comparada aos valores iniciais ($p < 0,05$), enquanto os pacientes do grupo treino apresentavam um aumento significativo nessa variável, em comparação aos valores prévios ao treinamento ($p < 0,05$)

Os valores da Onda Ea estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

F.3. Marcadores de Atividade Inflamatória

Demonstramos até o momento que o treinamento físico melhora a capacidade funcional dos pacientes com IC e que, do ponto de vista funcional, essa melhora está relacionada a um aumento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo e melhora da disfunção diastólica.

A seguir, procuramos determinar se essa melhora clínica e funcional se correlaciona a alterações na ativação de diversas vias envolvidas na resposta inflamatória cardiovascular, como demonstrado na Tabela 4.

Dosagens do fator de necrose tumoral α (TNF- α) mostraram uma grande variabilidade em ambos os grupos. Nos pacientes do grupo Controle não foi detectada nenhuma alteração nas dosagens de TNF- α durante os quatro meses de estudo ($2,91 \pm 0,07$ vs $3,29 \pm 0,23$ pg/ml, Pós vs. Pré , respectivamente, $p=NS$) o mesmo ocorrendo no grupo Treino ($3,47 \pm 0,24$ vs $3,88 \pm 0,36$ Pós vs. Pré , respectivamente, $p=NS$)(Figura 14).

Esse mesmo padrão foi observado em relação às dosagens séricas de IL-6, como mostrado na Figura 15. Pacientes do grupo Controle apresentaram dosagens séricas iniciais de IL-6 de $7,87 \pm 4,44$ pg/ml e finais de $7,23 \pm 4,60$ pg/ml ($p=NS$), enquanto no grupo Treino esses valores foram de $10,23 \pm 3,01$ e $8,51 \pm 3,83$ pg/ml (Pós vs. Pré , respectivamente, $p=NS$).

A via de sinalização representada pelo receptor de membrana CD40 e seu ligante desempenha um importante papel na fisiopatologia de diversas

doenças cardiovasculares. Assim, dosamos os níveis séricos da fração solúvel do CD40L nos pacientes participantes de nosso estudo. Observamos uma grande variabilidade nos valores iniciais no grupo Controle, e esses valores não se alteram após os quatro meses do estudo ($38,35 \pm 15,15$ vs. $44,37 \pm 17,51$ pg/ml Pós vs. Pré, respectivamente, $p=NS$). O treinamento físico não alterou esses valores que, no grupo Treino, eram de $99,96 \pm 62,93$ pg/ml e passaram a $95,37 \pm 60,51$ pg/ml ($p=NS$) (Figura 16). A expressão do RNAm para o receptor de membrana CD40 em leucócitos circulantes foi medida por RT-PCR. Observamos que, no grupo Controle, a relação de RNAm para CD40 para o RNAm de GAPDH era de $0,28 \pm 0,06$ inicialmente e passou a $0,31 \pm 0,10$ ($p=NS$), enquanto nos pacientes do grupo Treino os valores foram de $0,50 \pm 0,14$ vs $0,31 \pm 0,09$ (Pós vs. Pré, respectivamente, $p=NS$) (Figura 17).

Finalmente, avaliamos a expressão de RNAm para os fatores de transcrição PPAR α e γ em leucócitos circulantes. Esses receptores nucleares possuem efeito anti-inflamatório em doenças cardiovasculares, porém o exercício físico não foi capaz de modular a transcrição desses genes. Nenhuma diferença foi observada na relação RNAm PPARs em relação ao RNAm de GAPDH, tanto no grupo Controle quanto no grupo Treino (Figuras 18 e 19).

Dos dados apresentados podemos concluir que o treinamento físico não altera os marcadores de atividade inflamatória por nós avaliados.

Tabela 4: Atividade inflamatória nos períodos pré e pós treinamento físico nos grupos controle e treino

Variável	Grupo Controle		<i>p</i>	Grupo Treino		<i>p</i>	<i>*p</i>
	Pré	Pós		Pré	Pós		
PPAR- γ RNAm (GAPDH RNAm (x10 ⁻³))	0,34 \pm 0,15	0,96 \pm 0,74	ns	1,83 \pm 0,70	1,82 \pm 0,60	ns	ns
PPAR- α RNAm (GAPDH RNAm (x10 ⁻³))	0,02 \pm 0,01	0,06 \pm 0,04	ns	0,02 \pm 0,05	0,03 \pm 0,01	ns	ns
IL-6 (pg/ml)	7,87 \pm 4,44	7,23 \pm 4,60	ns	10,23 \pm 3,01	8,51 \pm 3,83	ns	ns
TNF- α (pg/ml)	3,29 \pm 0,23	2,91 \pm 0,07	ns	3,88 \pm 0,36	3,47 \pm 0,24	ns	ns
CD40L (pg/ml)	44,37 \pm 7,51	38,35 \pm 15,15	ns	99,96 \pm 62,93	95,37 \pm 60,51	ns	ns
CD40 RNAm (GAPDH RNAm)	0,28 \pm 0,06	0,31 \pm 0,10	ns	0,50 \pm 0,14	0,31 \pm 0,09	ns	ns

**p* relacionado à diferença entre Controle vs Treino

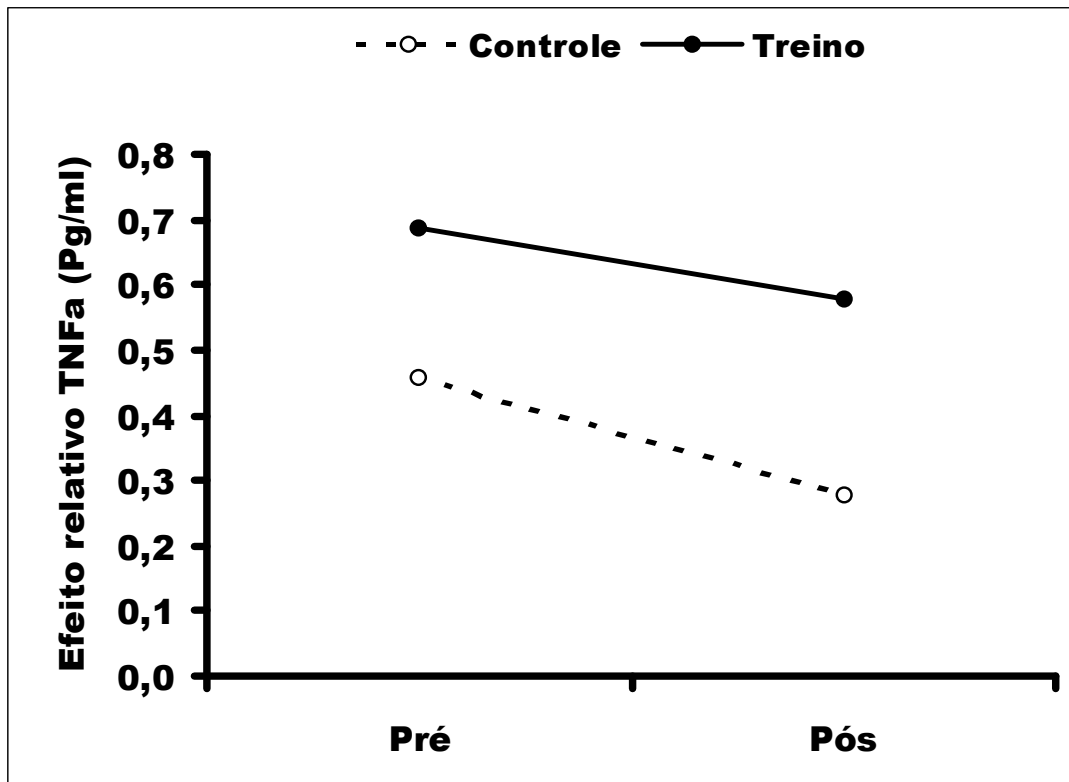


Figura 14: Evolução das dosagens séricas de TNF- α nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada nenhuma alteração nos níveis séricos de TNF- α nos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram comportamento semelhante.

Os valores da TNF- α estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

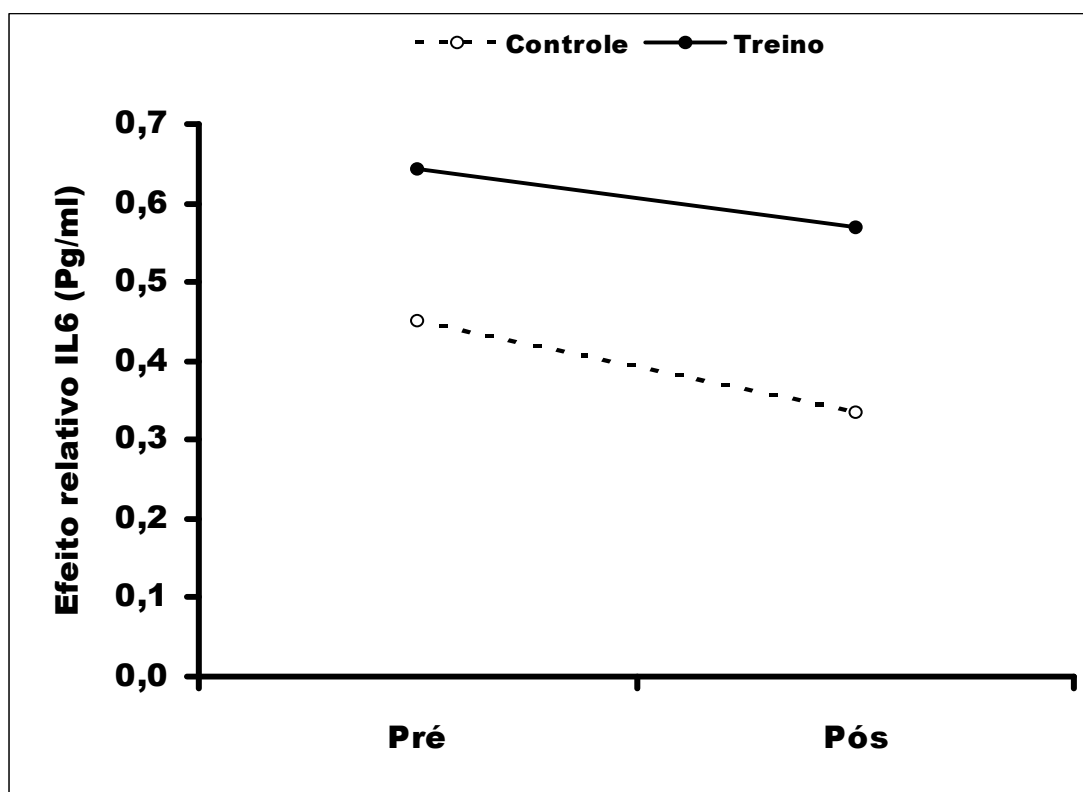


Figura 15: Evolução das dosagens séricas de IL-6 nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada nenhuma alteração nos níveis séricos de IL-6 nos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram comportamento semelhante.

Os valores da IL-6 estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

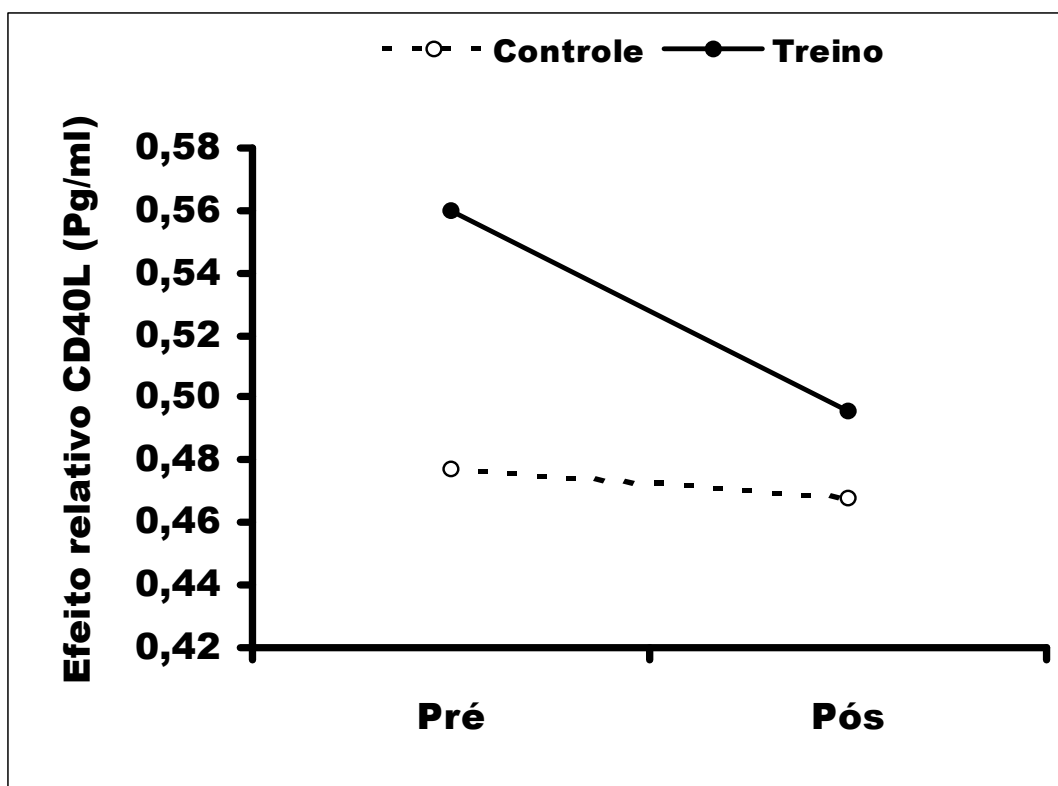


Figura 16: Evolução das dosagens séricas de CD40L nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada alteração nos níveis séricos de CD40L nos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram o mesmo comportamento .

Os valores da CD40L estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

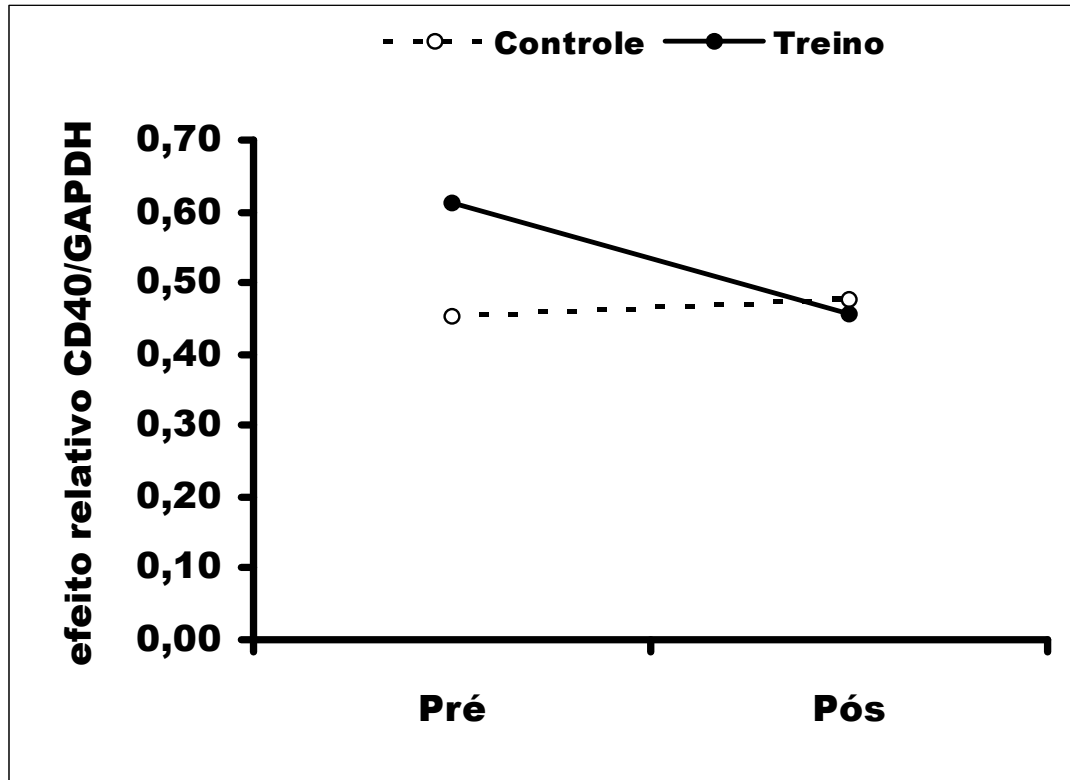


Figura 17: Evolução da expressão de RNAm para o receptor de membrana CD40 em leucócitos circulantes nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada alteração na transcrição do gene CD40 em leucócitos circulantes dos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram o mesmo comportamento .

Os valores da CD40 estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

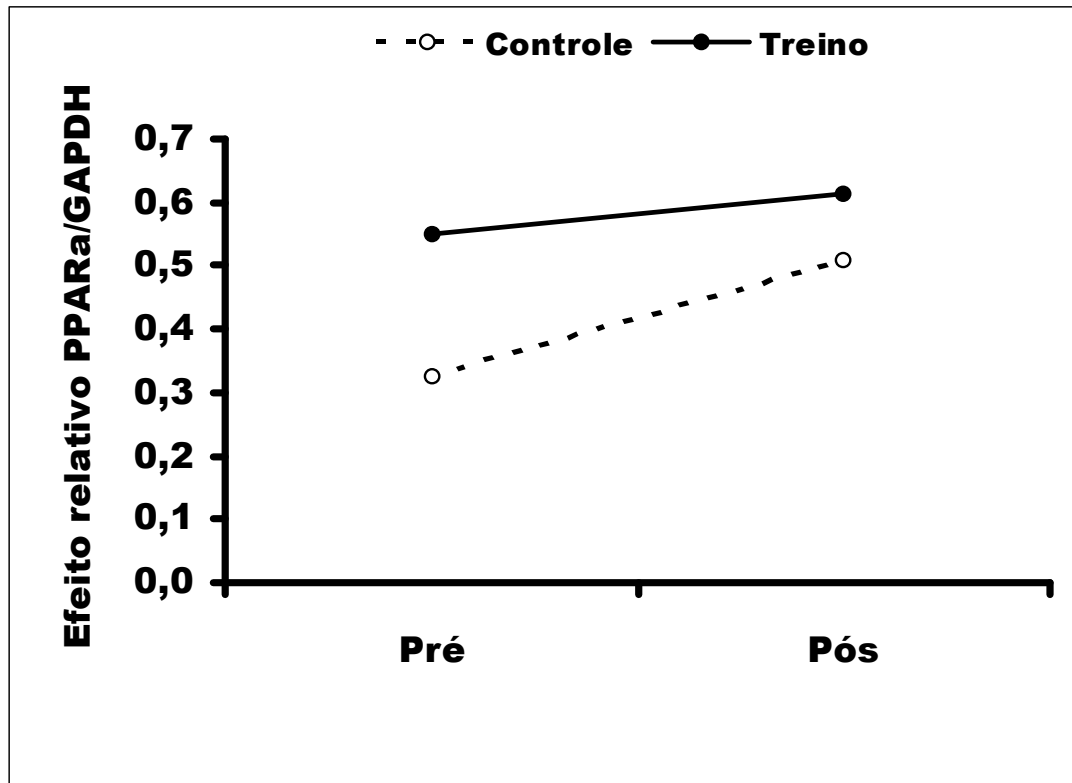


Figura 18: Evolução da expressão de RNAm para o fator de transcrição PPAR α em leucócitos circulantes nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada alteração na transcrição do gene PPAR α em leucócitos circulantes dos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram o mesmo comportamento .

Os valores da CD40 estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

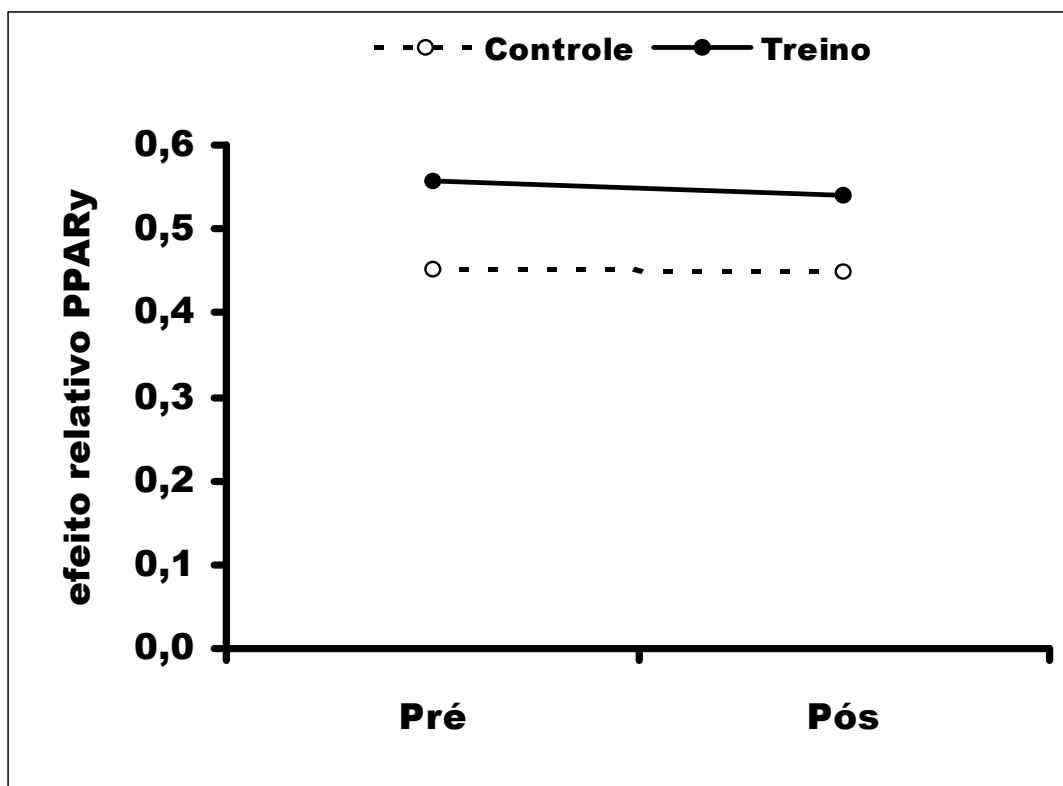


Figura 19: Evolução da expressão de RNAm para o fator de transcrição PPAR γ em leucócitos circulantes nos grupos Controle e Treino.

Não foi detectada alteração na transcrição do gene PPAR γ em leucócitos circulantes dos pacientes do grupo controle, após quatro meses de acompanhamento, comparados aos valores iniciais ($p=NS$). Os pacientes do grupo Treino apresentaram o mesmo comportamento .

Os valores da CD40 estão representados no gráfico em forma de efeito relativo, como estratégia de melhor análise e visualização dos dados.

G. DISCUSSÃO

O treinamento físico tem sido prescrito como uma terapia adjuvante para pacientes com insuficiência cardíaca, porém pouco se sabe sobre seus efeitos sobre alguns marcadores inflamatórios. Nesse estudo, foi observado que o exercício tem um efeito benéfico importante sobre os sintomas e função cardíaca em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca classe funcional (CF) II (NYHA), no entanto, não detectamos um possível efeito do treinamento físico em marcadores inflamatórios ou componentes de sinalização inflamatória.

Mostramos inicialmente que o protocolo de treinamento físico utilizado por nossos pacientes foi bem tolerado. Não houve nenhuma desistência entre os participantes e nenhum deles se queixou de sintomas graves de desconforto durante ou após o treinamento. Além disso, um dado muito importante foi o fato do absenteísmo ter sido mínimo entre os pacientes participantes do programa de treinamento físico, apesar de todas as dificuldades encontradas por esses pacientes para chegarem ao local do treino. A maioria desses pacientes percorria grandes distâncias para chegar ao Incor, dependendo de transporte público para isso.

O protocolo de treinamento foi eficaz, como podemos observar pelos dados do consumo de oxigênio. Enquanto os pacientes do grupo controle não apresentavam qualquer alteração nessa variável, os pacientes treinados

apresentaram uma grande melhora. Esse dado é bastante significativo, pois representa uma maior tolerância dos pacientes treinados ao exercício (Hambrecht, Fiehn et al. 1998). Uma vez que a intolerância ao exercício é considerada um fator de mau prognóstico em pacientes com IC (Conn, Williams et al. 1982) , o fato de conseguirmos melhorar essa variável através de nosso protocolo sugere que podemos ter melhorado a sobrevida e qualidade de vida desses pacientes, porém um seguimento mais longo com maior número de pacientes deveria ser conduzido para que essa afirmação possa ser feita com certeza.

Importante também salientar que não houve qualquer evento cardiovascular no grupo de pacientes treinados, porém a amostra limitada, o tempo curto e o fato dos pacientes do grupo controle também não terem apresentado qualquer evento impossibilitam nossa avaliação quanto à capacidade do treinamento de prevenir eventos agudos. No entanto, podemos afirmar que não houve deterioração do quadro clínico e, considerando-se a gravidade do quadro desses pacientes, esse foi um dado bastante positivo.

A avaliação anatômica e funcional nesses pacientes foi realizada utilizando-se o ecocardiograma. Avaliamos inicialmente a função sistólica do ventrículo esquerdo através do índice do escore de contratilidade segmentar (IECS), e pela fração de ejeção calculada pelo método de Simpson, que permitiu fazer comparações entre os grupos nos dois momentos do estudo.

Os pacientes arrolados no estudo tinham FEVE abaixo do normal, como era de se esperar e o valor antes do início do protocolo foi bastante parecido

nos dois grupos. O interessante é que os pacientes no grupo controle apresentaram uma queda significativa na FEVE durante o período que durou o estudo. No grupo Treino, o exercício físico foi capaz de manter a FEVE em valores semelhantes aos medidos antes do protocolo. Por isso, obtivemos uma diferença estatística na medida da evolução dos pacientes, favorecendo o treinamento físico. A dúvida, entretanto persiste sobre essa rápida piora da FEVE nos pacientes não treinados. A hipótese mais provável para explicar esse fenômeno é a evolução da própria doença, já que nenhum evento cardiovascular ou de outra natureza foi relatado pelos pacientes durante o período do estudo. Outra hipótese é o relato de pacientes que participam de programas de treinamento físico supervisionado apresentarem melhora da sintomatologia e auto-estima (Koch, Douard et al. 1992) , fazendo com que a aderência ao tratamento farmacológico seja maior, o que pode não ter ocorrido nos pacientes do grupo controle, apesar de termos dispensado a mesma atenção a ambos. A aderência ao tratamento farmacológico não foi avaliada de maneira mais objetiva (questionários específicos) pois não fazia parte de nossos objetivos, assim essa hipótese não pode ser avaliada.

A função diastólica do ventrículo esquerdo foi também avaliada, utilizando-se para isso as medidas das velocidades obtidas pelo Doppler pulsado do fluxo valvar mitral e pelas velocidades obtidas pelo Doppler tecidual do anel mitral por ser uma técnica mais recente de uso do efeito Doppler que permite a avaliação das velocidades do miocárdio em sístole e diástole (Garcia, Thomas et al. 1998). O método tem se mostrado mais sensível e específico do

que o Doppler de fluxo mitral na detecção de disfunção diastólica do VE, além de sofrer pouca influência da pré-carga e pós-carga, e de não se comportar de forma parabólica entre as diferentes fases dessa disfunção.

Dos resultados aqui apresentados observa-se que os dados do Doppler do fluxo trans-valvar mitral mostram uma melhora da função diastólica do ventrículo esquerdo, entretanto, por critérios atuais esta afirmação é inconsistente. Quando avaliamos o dado do Doppler tecidual, podemos dizer que a melhora da velocidade média de E_a no grupo treinamento e sua piora no grupo controle, torna-se uma forte evidência de que o treinamento físico de fato melhorou a função diastólica do ventrículo esquerdo, apesar da relação E/E_a não ter mudado em ambos os grupos. Talvez o número de pacientes que participou deste estudo não tenha sido suficiente para mostrar de forma inequívoca esta melhora da função diastólica do ventrículo esquerdo com o treinamento físico.

Considerando-se em conjunto os dados clínicos e ecocardiográficos, podemos concluir que houve uma melhora da função miocárdica nos pacientes submetidos a treinamento físico, quando comparados aos pacientes do grupo controle.

A seguir investigamos se essa melhora foi acompanhada por uma modulação da resposta inflamatória. Buscamos avaliar o processo inflamatório através da análise de vias de sinalização que sabidamente agem no sistema cardiovascular.

Inicialmente avaliamos a secreção das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6. Ambas as citocinas já foram anteriormente descritas como se correlacionando de maneira direta com a gravidade da doença em pacientes com insuficiência cardíaca (Adamopoulos, Parissis et al. 2001). Neste estudo, foi observada uma melhora da CF nesses pacientes após o treinamento físico, porém não foi detectada alteração nos níveis séricos de TNF- α e IL-6. Uma explicação para isso, foi que os níveis séricos basais foram baixos, isto é, estavam aumentados quando comparados com indivíduos saudáveis, mas não de forma significativa. Esses resultados poderiam ser diferentes em estágios mais avançados da doença, onde os níveis séricos de TNF- α e IL-6 podem estar mais aumentados. Também não foi possível detectar diferença, mesmo quando apenas os pacientes que melhoraram a CF foram considerados, no entanto, este subgrupo (5 pacientes), foi pequeno para se obter dados com significância estatística. Esse resultado, não é, em absoluto, um dado isolado na literatura. Outros autores também não conseguiram determinar correlação direta entre os níveis séricos dessas citocinas e a evolução da IC, independente dos tratamentos realizados ou da atividade física (Conraads, Beckers et al. 2002; Gielen, Adams et al. 2003).

Investigamos a seguir a ativação da via de sinalização CD40/CD40L e sua relação com o exercício. Estas proteínas foram envolvidas na patogênese de várias doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose, reestenose após angioplastia e IC (referências pode por 3 ou mais). Além disso, os níveis séricos

de CD40L estavam aumentados de forma significativa nesses pacientes quando comparados com indivíduos saudáveis e a expressão deste marcador pode ser útil como um fator prognóstico nos pacientes com IC (Ueland, Aukrust et al. 2005) Neste estudo, não detectamos diferenças dos níveis séricos de CD40L solúvel e também não houve mudanças significativas no RNAm de CD40 em ambos os grupos, pré e pós o período de treinamento físico. Em uma recente publicação, Bjornstad et al., demonstraram que após 20 semanas de treinamento, níveis plasmáticos de CD40L foram reduzidos de forma significativa (Bjornstad, Bruvik et al. 2008). Neste estudo, os pacientes foram classificados como CF II e III, diferentemente de nosso estudo, onde apenas pacientes de CF II foram selecionados. Níveis plasmáticos de CD40L também estão correlacionados com a gravidade da doença, portanto os níveis plasmáticos de nossos pacientes não eram tão elevados, fator que também refletiu na mudança de CF de II para I, onde uma pequena queda de CD40L era esperada, no entanto, talvez devido a nossa amostra limitada, não foi possível detectá-la. Além disso, o estudo de Bjornstad não contou com um grupo controle, o que representa uma grave falha metodológica.

Finalmente, avaliamos a expressão dos fatores de transcrição PPARs α e γ , em pacientes com IC e os possíveis efeitos do exercício. Essas proteínas fazem parte da família dos receptores nucleares e estão envolvidos no controle do metabolismo de lípidos e carboidratos (Francis, Fayard et al. 2003). Recentemente, entretanto, ambos esses fatores de transcrição foram descritos

também como capazes de exercer atividade anti-inflamatória, principalmente em doenças cardiovasculares (Daynes and Jones 2002; Finck 2007; Staels, Maes et al. 2008). Em um modelo experimental de doença cardíaca isquêmica e IC, Shiomi et al descreveram que agonistas PPAR- α e γ , podem melhorar a função cardíaca e a remodelação, devido a uma diminuição na hipertrofia dos miócitos e fibrose intersticial (Shiomi, Tsutsui et al. 2002), sugerindo que, na IC, uma melhora da função cardíaca pode estar associada com o aumento de expressão de PPARs. Nós testamos esta hipótese e apesar de nossos pacientes apresentarem uma melhora na disfunção diastólica, não observamos diferenças na expressão dos PPARs, antes e depois do treinamento em ambos os grupos, o que para nós foi surpreendente, uma vez que, vários estudos clínicos e experimentais, com diferentes desenhos e modelos experimentais (Shiomi, Tsutsui et al. 2002; Chen and Mehta 2006), sinalizou que as mudanças na atividade de PPARs poderia estar relacionada com a melhora da IC.

Em resumo, os marcadores de atividade inflamatória por nós avaliados não foram capazes de detectar a melhora funcional observada no acompanhamento clínico e ecocardiográfico. Os motivos para esse fenômeno podem ser vários. As vias de sinalização por nós avaliadas podem não ser aquelas que sofrem a influência do exercício físico, ou não são adequadas como biomarcadores de evolução clínica. Além disso, nosso estudo possui limitações que podem ter impedido de obtermos uma correlação mais direta.

Outra hipótese é a possibilidade do exercício físico exercer um efeito benéfico por outras vias, não alterando de maneira direta ou significativa os

marcadores inflamatórios. Entre os possíveis efeitos benéficos do treinamento físico em pacientes com insuficiência cardíaca podemos destacar a melhora da vasodilatação periférica, maior liberação de NO, diminuição de catecolaminas e atividade nervosa simpática, porém esses mecanismos não foram investigados nesse estudo.

Por último alguns comentários são necessários quanto às limitações do nosso estudo. A amostra selecionada era composta exclusivamente por pacientes com IC compensada, o que conferiu uma homogeneidade à amostra, porém impediu que fossem estudados pacientes com doença mais grave, ou descompensada, que poderiam ter alterações mais facilmente detectáveis nos marcadores por nós avaliados(Ueland, Aukrust et al. 2005). A nossa amostra foi pequena do ponto de vista estatístico, mas grande, quando levadas em consideração as dificuldades desses pacientes aderirem ao treinamento físico 3 vezes por semana em local distante de sua residência. Apesar dessas limitações, acreditamos que nosso estudo produziu informações relevantes.

Em resumo, nosso estudo demonstra que a atividade inflamatória, característica dos pacientes com insuficiência cardíaca, mesmo quando não reduzida através da intervenção do treinamento físico, não é um fator de interferência negativa para a obtenção de outros benefícios que o treinamento físico pode proporcionar para os pacientes. Neste estudo foi observada uma melhora do consumo pico de oxigênio e da disfunção diastólica, demonstrando que além das adaptações musculares periféricas, houve uma melhora no músculo cardíaco, além do que, o grupo controle não obteve os mesmos

benefícios e apresentou uma piora significativa na fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Portanto, nosso estudo enfatiza que o treinamento físico deve ser recomendado para o tratamento de pacientes com IC.

H. CONCLUSÃO

O treinamento físico é bem tolerado por pacientes com insuficiência cardíaca e melhora a capacidade funcional e a variáveis funcionais, medidas pelo ecocardiograma. Não houve efeito do exercício físico nos marcadores de atividade inflamatória medidos em nosso estudo.

I. BIBLIOGRAFIA

- (1992). "Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigattors." N Engl J Med **327**(10): 685-91.
- Adamopoulos, S., J. Parissis, et al. (2002). "Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure." J Am Coll Cardiol **39**(4): 653-63.
- Adamopoulos, S., J. T. Parissis, et al. (2001). "A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure." Eur J Heart Fail **3**(5): 517-26.
- Agnoletti, L., S. Curello, et al. (1999). "Serum from patients with severe heart failure downregulates eNOS and is proapoptotic: role of tumor necrosis factor-alpha." Circulation **100**(19): 1983-91.
- Anker, S. D., M. Volterrani, et al. (1998). "Tumour necrosis factor alpha as a predictor of impaired peak leg blood flow in patients with chronic heart failure." Qjm **91**(3): 199-203.
- Araujo, D. V., L. R. Tavares, et al. (2005). "[Cost of heart failure in the Unified Health System]." Arq Bras Cardiol **84**(5): 422-7.
- Barretto, A. C., C. H. Del Carlo, et al. (2008). "Hospital readmissions and death from Heart Failure--rates still alarming." Arq Bras Cardiol **91**(5): 335-41.
- Belardinelli, R., D. Georgiou, et al. (1995). "Low intensity exercise training in patients with chronic heart failure." J Am Coll Cardiol **26**(4): 975-82.
- Bjornstad, H. H., J. Bruvik, et al. (2008). "Exercise training decreases plasma levels of soluble CD40 ligand and P-selectin in patients with chronic heart failure." Eur J Cardiovasc Prev Rehabil **15**(1): 43-8.
- Bocchi, E. A., Z. Massuda, et al. (1999). "Growth hormone for optimization of refractory heart failure treatment." Arq Bras Cardiol **73**(4): 391-8.
- Bristow, M. R. (1993). "Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure." J Am Coll Cardiol **22**(4 Suppl A): 61A-71A.
- Cerqueira, M. D., N. J. Weissman, et al. (2002). "Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association." Circulation **105**(4): 539-42.
- Chen, J. and J. L. Mehta (2006). "Angiotensin II-mediated oxidative stress and procollagen-1 expression in cardiac fibroblasts: blockade by pravastatin and pioglitazone." Am J Physiol Heart Circ Physiol **291**(4): H1738-45.
- Chinetti, G., J. C. Fruchart, et al. (2000). "Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation." Inflamm Res **49**(10): 497-505.

- Cicoira, M., A. P. Bolger, et al. (2001). "High tumour necrosis factor-alpha levels are associated with exercise intolerance and neurohormonal activation in chronic heart failure patients." Cytokine **15**(2): 80-6.
- Clark, M. G., J. M. Newman, et al. (1998). "Microvascular regulation of muscle metabolism." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **1**(2): 205-10.
- Coats, A. J., S. Adamopoulos, et al. (1992). "Controlled trial of physical training in chronic heart failure. Exercise performance, hemodynamics, ventilation, and autonomic function." Circulation **85**(6): 2119-31.
- Conn, E. H., R. S. Williams, et al. (1982). "Exercise responses before and after physical conditioning in patients with severely depressed left ventricular function." Am J Cardiol **49**(2): 296-300.
- Conraads, V. M., P. Beckers, et al. (2002). "Combined endurance/resistance training reduces plasma TNF-alpha receptor levels in patients with chronic heart failure and coronary artery disease." Eur Heart J **23**(23): 1854-60.
- Daynes, R. A. and D. C. Jones (2002). "Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity." Nat Rev Immunol **2**(10): 748-59.
- Deswal, A., N. J. Petersen, et al. (2001). "Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST)." Circulation **103**(16): 2055-9.
- Djeu, J. Y., D. K. Blanchard, et al. (1988). "Tumor necrosis factor induction by *Candida albicans* from human natural killer cells and monocytes." J Immunol **141**(11): 4047-52.
- Elster, S. K., E. Braunwald, et al. (1956). "A study of C-reactive protein in the serum of patients with congestive heart failure." Am Heart J **51**(4): 533-41.
- Ferroni, P., F. Santilli, et al. (2007). "Contribution of platelet-derived CD40 ligand to inflammation, thrombosis and neoangiogenesis." Curr Med Chem **14**(20): 2170-80.
- Finck, B. N. (2007). "The PPAR regulatory system in cardiac physiology and disease." Cardiovasc Res **73**(2): 269-77.
- Finkel, M. S., C. V. Oddis, et al. (1992). "Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide." Science **257**(5068): 387-9.
- Francis, G. A., E. Fayard, et al. (2003). "Nuclear receptors and the control of metabolism." Annu Rev Physiol **65**: 261-311.
- Fukai, T., M. R. Siegfried, et al. (2000). "Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training." J Clin Invest **105**(11): 1631-9.
- Gaffney, T. E. and E. Braunwald (1963). "Importance of the adrenergic nervous system in the support of circulatory function in patients with congestive heart failure." Am J Med **34**: 320-4.
- Garcia, M. J., J. D. Thomas, et al. (1998). "New Doppler echocardiographic applications for the study of diastolic function." J Am Coll Cardiol **32**(4): 865-75.

- Giannuzzi, P., P. L. Temporelli, et al. (2003). "Antiremodeling effect of long-term exercise training in patients with stable chronic heart failure: results of the Exercise in Left Ventricular Dysfunction and Chronic Heart Failure (ELVD-CHF) Trial." Circulation **108**(5): 554-9.
- Gielen, S., V. Adams, et al. (2003). "Anti-inflammatory effects of exercise training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure." J Am Coll Cardiol **42**(5): 861-8.
- Gorlach, A., R. P. Brandes, et al. (2000). "Oxidative stress and expression of p22phox are involved in the up-regulation of tissue factor in vascular smooth muscle cells in response to activated platelets." Faseb J **14**(11): 1518-28.
- Griendling, K. K., C. A. Minieri, et al. (1994). "Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells." Circ Res **74**(6): 1141-8.
- Habib, F. M., D. R. Springall, et al. (1996). "Tumour necrosis factor and inducible nitric oxide synthase in dilated cardiomyopathy." Lancet **347**(9009): 1151-5.
- Hambrecht, R., V. Adams, et al. (1999). "Exercise intolerance in patients with chronic heart failure and increased expression of inducible nitric oxide synthase in the skeletal muscle." J Am Coll Cardiol **33**(1): 174-9.
- Hambrecht, R., E. Fiehn, et al. (1998). "Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure." Circulation **98**(24): 2709-15.
- Hambrecht, R., E. Fiehn, et al. (1997). "Effects of endurance training on mitochondrial ultrastructure and fiber type distribution in skeletal muscle of patients with stable chronic heart failure." J Am Coll Cardiol **29**(5): 1067-73.
- Hambrecht, R., J. Niebauer, et al. (1995). "Physical training in patients with stable chronic heart failure: effects on cardiorespiratory fitness and ultrastructural abnormalities of leg muscles." J Am Coll Cardiol **25**(6): 1239-49.
- Hammond, R. L., R. A. Augustyniak, et al. (2000). "Heart failure alters the strength and mechanisms of the muscle metaboreflex." Am J Physiol Heart Circ Physiol **278**(3): H818-28.
- Han, Y., M. S. Runge, et al. (1999). "Angiotensin II induces interleukin-6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors." Circ Res **84**(6): 695-703.
- Hansen, J., G. D. Thomas, et al. (1994). "Muscle metaboreflex triggers parallel sympathetic activation in exercising and resting human skeletal muscle." Am J Physiol **266**(6 Pt 2): H2508-14.
- Jain, M., A. Jakubowski, et al. (2009). "A Novel Role for Tumor Necrosis Factor-Like Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK) in the Development of Cardiac Dysfunction and Failure." Circulation.

- Jette, M., R. Heller, et al. (1991). "Randomized 4-week exercise program in patients with impaired left ventricular function." Circulation **84**(4): 1561-7.
- Karmann, K., C. C. Hughes, et al. (1995). "CD40 on human endothelial cells: inducibility by cytokines and functional regulation of adhesion molecule expression." Proc Natl Acad Sci U S A **92**(10): 4342-6.
- Keteyian, S. J., C. A. Brawner, et al. (1999). "Effects of exercise training on chronotropic incompetence in patients with heart failure." Am Heart J **138**(2 Pt 1): 233-40.
- Koch, M., H. Douard, et al. (1992). "The benefit of graded physical exercise in chronic heart failure." Chest **101**(5 Suppl): 231S-235S.
- Krown, K. A., M. T. Page, et al. (1996). "Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death." J Clin Invest **98**(12): 2854-65.
- Kubota, T., C. F. McTiernan, et al. (1997). "Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha." Circ Res **81**(4): 627-35.
- Larsen, A. I., P. Aukrust, et al. (2001). "Effect of aerobic exercise training on plasma levels of tumor necrosis factor alpha in patients with heart failure." Am J Cardiol **88**(7): 805-8.
- Larsen, A. I., S. Lindal, et al. (2002). "Effect of exercise training on skeletal muscle fibre characteristics in men with chronic heart failure. Correlation between skeletal muscle alterations, cytokines and exercise capacity." Int J Cardiol **83**(1): 25-32.
- Lee, A. P., R. Ice, et al. (1979). "Long-term effects of physical training on coronary patients with impaired ventricular function." Circulation **60**(7): 1519-26.
- Lee, C. H., A. Chawla, et al. (2003). "Transcriptional repression of atherogenic inflammation: modulation by PPARdelta." Science **302**(5644): 453-7.
- Levine, B., J. Kalman, et al. (1990). "Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure." N Engl J Med **323**(4): 236-41.
- Libby, P. (2000). "Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization." Am J Cardiol **86**(8B): 3J-8J; discussion 8J-9J.
- Liu, J. L., J. Kulakofsky, et al. (2002). "Exercise training enhances baroreflex control of heart rate by a vagal mechanism in rabbits with heart failure." J Appl Physiol **92**(6): 2403-8.
- Lloyd-Jones, D. M., M. G. Larson, et al. (2002). "Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study." Circulation **106**(24): 3068-72.
- Mach, F., U. Schonbeck, et al. (1998). "Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling." Nature **394**(6689): 200-3.
- McAlister, F. A., J. Ezekowitz, et al. (2004). "Renal insufficiency and heart failure: prognostic and therapeutic implications from a prospective cohort study." Circulation **109**(8): 1004-9.

- Middlekauff, H. R., E. U. Nitzsche, et al. (2000). "Exaggerated renal vasoconstriction during exercise in heart failure patients." Circulation **101**(7): 784-9.
- Mittelstadt, S. W., L. B. Bell, et al. (1994). "Muscle chemoreflex alters vascular conductance in nonischemic exercising skeletal muscle." J Appl Physiol **77**(6): 2761-6.
- Negrao, C. E., M. A. Hamilton, et al. (2000). "Impaired endothelium-mediated vasodilation is not the principal cause of vasoconstriction in heart failure." Am J Physiol Heart Circ Physiol **278**(1): H168-74.
- Niebauer, J. (2008). "Effects of exercise training on inflammatory markers in patients with heart failure." Heart Fail Rev **13**(1): 39-49.
- O'Connell, J. B. and M. R. Bristow (1994). "Economic impact of heart failure in the United States: time for a different approach." J Heart Lung Transplant **13**(4): S107-12.
- Ohkawa, F., U. Ikeda, et al. (1995). "Effects of inflammatory cytokines on vascular tone." Cardiovasc Res **30**(5): 711-5.
- Orlandi, C., C. J. Dunn, et al. (1988). "Evaluation of angiogenesis in chronic inflammation by laser-Doppler flowmetry." Clin Sci (Lond) **74**(2): 119-21.
- Orus, J., E. Roig, et al. (2000). "Prognostic value of serum cytokines in patients with congestive heart failure." J Heart Lung Transplant **19**(5): 419-25.
- Petrie, M. and J. McMurray (2001). "Changes in notions about heart failure." Lancet **358**(9280): 432-4.
- Piepoli, M., A. L. Clark, et al. (1996). "Contribution of muscle afferents to the hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in patients with chronic heart failure: effects of physical training." Circulation **93**(5): 940-52.
- Pliquett, R. U., K. G. Cornish, et al. (2003). "Amelioration of depressed cardiopulmonary reflex control of sympathetic nerve activity by short-term exercise training in male rabbits with heart failure." J Appl Physiol **95**(5): 1883-8.
- Poynter, M. E. and R. A. Daynes (1998). "Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor-kappaB signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging." J Biol Chem **273**(49): 32833-41.
- Remme, W. J. and K. Swedberg (2001). "Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure." Eur Heart J **22**(17): 1527-60.
- Roveda, F., H. R. Middlekauff, et al. (2003). "The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure: a randomized controlled trial." J Am Coll Cardiol **42**(5): 854-60.
- Ruef, J., M. Browatzki, et al. (2007). "Angiotensin II promotes the inflammatory response to CD40 ligation via TRAF-2." Vasc Med **12**(1): 23-7.
- Rychik, J. and Z. Y. Tian (1996). "Quantitative assessment of myocardial tissue velocities in normal children with Doppler tissue imaging." Am J Cardiol **77**(14): 1254-7.

- Schonbeck, U., F. Mach, et al. (1999). "Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo." J Exp Med **189**(5): 843-53.
- Schrier, R. W. and W. T. Abraham (1999). "Hormones and hemodynamics in heart failure." N Engl J Med **341**(8): 577-85.
- Scott, A. C., R. Wensel, et al. (2003). "Skeletal muscle reflex in heart failure patients: role of hydrogen." Circulation **107**(2): 300-6.
- Sessa, W. C., K. Pritchard, et al. (1994). "Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression." Circ Res **74**(2): 349-53.
- Seta, Y., K. Shan, et al. (1996). "Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis." J Card Fail **2**(3): 243-9.
- Sheng, Z., K. Knowlton, et al. (1997). "Cardiotrophin 1 (CT-1) inhibition of cardiac myocyte apoptosis via a mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. Divergence from downstream CT-1 signals for myocardial cell hypertrophy." J Biol Chem **272**(9): 5783-91.
- Shiomi, T., H. Tsutsui, et al. (2002). "Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction." Circulation **106**(24): 3126-32.
- Sohn, D. W., I. H. Chai, et al. (1997). "Assessment of mitral annulus velocity by Doppler tissue imaging in the evaluation of left ventricular diastolic function." J Am Coll Cardiol **30**(2): 474-80.
- Souza, H. P., D. Frediani, et al. (2009). "Angiotensin II modulates CD40 expression in vascular smooth muscle cells." Clin Sci (Lond) **116**(5): 423-31.
- Staels, B., W. Koenig, et al. (1998). "Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators." Nature **393**(6687): 790-3.
- Staels, B., M. Maes, et al. (2008). "Fibrates and future PPARalpha agonists in the treatment of cardiovascular disease." Nat Clin Pract Cardiovasc Med **5**(9): 542-53.
- Stratford, N., K. Britten, et al. (1986). "Inflammatory infiltrates in human coronary atherosclerosis." Atherosclerosis **59**(3): 271-6.
- Sullivan, M. J., M. B. Higginbotham, et al. (1988). "Increased exercise ventilation in patients with chronic heart failure: intact ventilatory control despite hemodynamic and pulmonary abnormalities." Circulation **77**(3): 552-9.
- Swedberg, K., P. Eneroth, et al. (1990). "Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group." Circulation **82**(5): 1730-6.
- Torre-Amione, G., S. Kapadia, et al. (1995). "Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium." Circulation **92**(6): 1487-93.
- Tsutamoto, T., T. Hisanaga, et al. (1998). "Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the

- high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure." J Am Coll Cardiol **31**(2): 391-8.
- Tyni-Lenne, R., A. Gordon, et al. (1997). "Skeletal muscle endurance training improves peripheral oxidative capacity, exercise tolerance, and health-related quality of life in women with chronic congestive heart failure secondary to either ischemic cardiomyopathy or idiopathic dilated cardiomyopathy." Am J Cardiol **80**(8): 1025-9.
- Ueland, T., P. Aukrust, et al. (2005). "Soluble CD40 ligand in acute and chronic heart failure." Eur Heart J **26**(11): 1101-7.
- van Kooten, C. and J. Banchereau (2000). "CD40-CD40 ligand." J Leukoc Biol **67**(1): 2-17.
- Wallsh, E., G. S. Weinstein, et al. (1986). "Inflammation of the coronary arteries in patients with unstable angina." Tex Heart Inst J **13**(1): 105-8.
- Wilkenshoff, U. M., L. Hatle, et al. (2001). "Age-dependent changes in regional diastolic function evaluated by color Doppler myocardial imaging: a comparison with pulsed Doppler indexes of global function." J Am Soc Echocardiogr **14**(10): 959-69.
- Wollert, K. C. and H. Drexler (2001). "The role of interleukin-6 in the failing heart." Heart Fail Rev **6**(2): 95-103.
- You Fang, Z. and T. H. Marwick (2003). "Mechanisms of exercise training in patients with heart failure." Am Heart J **145**(5): 904-11.