

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

OBESIDADE E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM PACIENTES COM
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: ASSOCIAÇÃO DE LEPTINA E ALTERAÇÕES
CARDÍACAS ESTRUTURAIS

TESE DE DOUTORADO
GABRIELA CORRÊA SOUZA

Professores Orientadores:

Dra. Nadine Clausell

Dra. Andréia Biolo

Porto Alegre, janeiro de 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

OBESIDADE E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM PACIENTES COM
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: ASSOCIAÇÃO DE LEPTINA E ALTERAÇÕES
CARDÍACAS ESTRUTURAIS

GABRIELA CORRÊA SOUZA

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares para Obtenção do título de Doutor em Ciências Cardiovasculares.

Professores Orientadores:

Dra. Nadine Clausell

Dra. Andréia Biolo

Porto Alegre, janeiro de 2011.

FICHA CATALOGRÁFICA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 07/01/2011, pela Comissão Examinadora constituída por:

Dr. Fernando Gerchman

Prof. Dr. Ingrid Dalira Schweigert Perry

Prof. Dr. Luis Eduardo Paim Rohde

CIP - Catalogação na Publicação

Souza, Gabriela Corrêa

Obesidade e composição corporal em pacientes com insuficiência cardíaca: Associação de leptina e alterações cardíacas estruturais / Gabriela Corrêa Souza. -- 2011.

91 f.

Orientadora: Nadine Clausell.

Coorientadora: Andreia Biolo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. insuficiência cardíaca. 2. obesidade. 3. leptina. 4. alterações cardíacas estruturais. 5. remodelamento cardíaco. I. Clausell, Nadine, orient. II. Biolo, Andreia, coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus avós, Joaquim Ramão
Rodrigues Corrêa (in memoriam) e
Rakel Cava Corrêa.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo suporte financeiro, através da concessão de bolsa de estudo, sem a qual não poderia dedicar-me integralmente a esta pesquisa.

Ao programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da UFRGS, cuja estrutura e organização foram fundamentais na realização deste projeto de Doutorado.

Ao Grupo de Pós - Graduação e Pesquisa e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio financeiro e atendimento prestado durante todas as etapas deste projeto de pesquisa.

Ao Grupo de Insuficiência Cardíaca do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Agradeço pelo acolhimento, confiança e estímulo. Em especial, a enfermeira Graziella Aliti, pelo carinho, amizade, apoio e momentos de descontração que passamos juntas. Parceria constante e prazerosa.

Ao Dr. Luis Beck da Silva Neto pela disponibilidade em acompanhar os testes cardiopulmonares.

À equipe do laboratório de pesquisa cardiovascular, em especial às biomédicas Nidiane Martinelli e Caroline Cohen, pela ajuda e suporte durante as diversas fases deste trabalho.

Ao fisioterapeuta Paulo José Cardoso Vieira, pela disponibilidade, amizade e dedicação durante todo o período de coleta de dados.

À Dra. Lívia Goldraich, pelo apoio, incentivo e contribuição em diversas etapas do projeto. Amizade construída ao longo do tempo e que iremos cultivar para sempre.

À nutricionista Karina Sanches d'Almeida e às acadêmicas Fernanda D. Alves e Priccila Zuchinali, pela disponibilidade, amizade e participação no projeto. Agradeço a dedicação e o trabalho incansável de vocês.

Ao professor Luis Eduardo Rohde. No início, seu jeito reservado despertava-me um misto de medo e admiração. Confesso que o medo se diluiu com o tempo, dando lugar apenas ao respeito e à amizade. Agradeço a oportunidade, o estímulo constante, os ensinamentos e o modelo de professor e pesquisador.

Em especial, as minhas orientadoras, Dr.^a Nadine Clausell e Dr.^a Andréia Biolo, meu profundo agradecimento. É muito difícil transformar em palavras a gratidão que tenho por vocês. Sou extremamente grata pela generosidade, paciência e dedicação com que vocês me apoiaram durante a realização desse trabalho.

À Andréia, pelo exemplo pessoal e profissional, e pela amizade que construímos durante esta trajetória.

À professora Nadine, pela confiança em mim depositada desde o primeiro momento e pelo empenho pessoal na minha integração ao Grupo de Insuficiência Cardíaca. Ajudando-me a superar obstáculos vivenciados durante a realização deste trabalho, no meu aprimoramento profissional, além de me proporcionar um grande crescimento pessoal. Pelo exemplo de dedicação, competência e ética que servem de referência para mim e tantos outros.

À minha família, que somou amor e estímulo aos meus esforços, por apoiarem as minhas escolhas, em especial a minha mãe Sandra Cava Corrêa.

Esta tese de doutorado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Doenças Cardiovasculares da UFRGS, sendo apresentada na forma de revisão da literatura e um manuscrito sobre o tema da tese:

1. Revisão da literatura;
2. Artigo original referente ao trabalho de pesquisa propriamente dito que deverá ser submetido para publicação em periódico científico de circulação internacional, conforme normas do mesmo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
I. REVISÃO DA LITERATURA	12
1. Insuficiência cardíaca	12
2. Insuficiência cardíaca e obesidade	13
3. Tecido adiposo	16
3.1 Leptina.....	17
3.1.1 Vias de sinalização da leptina	18
3.1.2 Expressão e regulação da leptina	21
3.1.3 Ações da leptina no sistema nervoso central	23
3.1.4 Ações periféricas da leptina	25
3.2 Leptina e sistema cardiovascular	27
3.3 Leptina e insuficiência cardíaca	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
RACIONAL DOS ESTUDOS	41
HIPÓTESE	42
OBJETIVOS	43
II. ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS	44
APÊNDICES	80
Apêndice 1A -Termo de consentimento livre e esclarecido.....	81
Apêndice 1B -Termo de consentimento livre e esclarecido - Grupo controle....	83
Apêndice 3 - Formulário para coleta de urina de 24 horas.....	85
Apêndice 4 - Ficha de coleta de dados	86
Apêndice 5 - Recordatório de 24 horas.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPcíclico – adenosina monofosfato cíclico

DCV – doença cardiovascular

DEXA – absorciometria de raios-x de dupla energia

DM – diabetes mellitus

ERK – quinase regulada por sinal extracelular

GC – gordura corporal

HAS – hipertensão arterial sistêmica

IAM – infarto agudo do miocárdio

IL – interleucina

IMC – índice de massa corporal

JAK – janus quinase

MAPK – proteína quinase ativada por mitógeno

MG – massa gorda

MLG – massa livre de gordura

mRNA – RNA mensageiro

NOR – norepinefrina

NPY – neuropeptídeo Y

Ob-R – receptor da leptina

Ob-Rb – isoforma longa do receptor da leptina

Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd e Ob-Rf – isoformas curtas do receptor da leptina

Ob-Re – receptor solúvel de leptina

PAI-1 – inibidor do ativador de plasminogênio-1

PKA – proteína quinase A

PTP1B – proteína tirosina fosfatase 1B

SNC – sistema nervoso central

SNS – sistema nervoso simpático

SOCS3 – supressor de sinalização de citocina 3

STAT – transdutor de sinal e ativador da transcrição

SUS – Sistema Único de Saúde

TNF- α – fator de necrose tumoral α

UCPs – proteínas desacopladoras da fosforilação oxidativa

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Resumo dos principais efeitos das adipocinas mais relevantes no sistema cardiovascular.....	18
Figura 2 – Via de sinalização intracelular da leptina.....	20
Figura 3 – Sinalização da leptina e papel da SOCS3 na atenuação do sinal do ObRb.....	22
Figura 4 – Leptina e balanço energético	25
Figura 5 – Funções sistêmicas da leptina e sua associação com doenças cardiovasculares.....	28
Figura 6 – Efeitos diretos da leptina no coração.....	29
Figura 7 – Potenciais efeitos diretos e indiretos de adipocinas no remodelamento cardíaco.....	31

Artigo original em inglês

Figure 1 – Body composition and leptin levels in heart failure patients	59
Figure 2 – Correlation between leptin levels and components of composition body in heart failure patients	69
Figure 3 – Correlation between leptin levels and echocardiographic parameters in heart failure patients	70

LISTAS DE TABELAS**Artigo original em inglês**

Table 1 – Demographic, clinical and laboratory characteristics of heart failure patients and control subjects	57
Table 2 – Demographic, clinical and laboratory characteristics of heart failure patients according to abdominal fat	59
Table 3 – Metabolic, inflammatory and echocardiographic characteristics of heart failure patients according to abdominal fat	64
Table 4 – Body composition, metabolic, inflammatory and echocardiographic characteristics of men and women with heart failure according to median abdominal fat percentage	66
Table 5 – Determinants of echocardiographic parameters by multivariate analysis.....	71

INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca é uma doença de prevalência e incidência elevada, tornando-se um crescente problema de saúde pública. Estudos de prevalência estimam que 23 milhões de pessoas no mundo têm diagnóstico de insuficiência cardíaca e que dois milhões de casos novos são diagnosticados anualmente¹. No ano de 2007, 2,6% das hospitalizações e 6% dos óbitos registrados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), do Ministério da Saúde no Brasil foram atribuídos à insuficiência cardíaca². O custo sócio-econômico causado pela doença é elevado, e envolve gastos com medicamentos, recorrentes internações e eventuais cirurgias, perda de produtividade e aposentadoria precoces^{1,2}.

1. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A insuficiência cardíaca é a via final comum da maioria das doenças que acometem o coração. É uma síndrome clínica complexa que se manifesta com disfunção do músculo cardíaco, hipertrofia ventricular e alterações hemodinâmicas causadas pela interação de fatores circulatórios, neuro-hormonais e metabólicos. Visando aumentar a força contrátil do miocárdio e preservar a função cardíaca e a perda de células miocárdicas, mecanismos hemodinâmicos e neuro-humorais são ativados¹.

O remodelamento ventricular está diretamente relacionado à fisiopatologia da insuficiência cardíaca³. O remodelamento ventricular ocorre a partir de modificações na expressão do genoma das células

miocárdicas, resultando em mudanças celulares, moleculares e intersticiais que determinam clinicamente mudanças no tamanho, forma e função do coração, em resposta a determinada carga ou lesão cardíaca, como infarto do miocárdio, sobrecarga pressórica, sobrecarga volumétrica e alterações inflamatórias^{3,4}. Esses processos histopatológicos no miocárdio levam o coração à sua progressiva falência e à síndrome da insuficiência cardíaca⁴.

2. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E OBESIDADE

O desenvolvimento e progressão da insuficiência cardíaca estão intimamente relacionados ao estado nutricional⁵. A obesidade também é definida como o excesso de gordura corporal e tem uma longa e estabelecida relação de causa-efeito com a doença cardiovascular (DCV) e com a insuficiência cardíaca⁶. Entretanto, o mecanismo fisiopatológico desta relação permanece complexo e incompreendido.

A associação com fatores de risco clássicos para DCV, incluindo hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes mellitus (DM), os quais aumentam o risco de infarto agudo do miocárdio (IAM) e do remodelamento cardíaco subsequente, é conhecida há bastante tempo⁶. No entanto, o conhecimento mais recente de que, mesmo após o controle dessas doenças associadas, o risco de eventos cardiovasculares permanece elevado, fez com que hoje em dia se considere a obesidade um fator de risco independente⁷. Em uma análise do estudo de Framingham onde cerca de 6000 pacientes sem insuficiência cardíaca foram acompanhados por 14 anos, 8% deles desenvolveram a doença, e o risco foi duas vezes maior

nos pacientes obesos⁸. É importante ressaltar que estas observações foram feitas após ajuste para fatores de risco conhecidos, indicando que a obesidade está independentemente associada com o risco de insuficiência cardíaca⁸.

Entretanto, ao contrário da população em geral, os pacientes com insuficiência cardíaca com valores de índice de massa corporal (IMC) mais elevados têm melhores taxas de sobrevivência em comparação aos pacientes eutróficos e desnutridos^{9,10,11,12}. Alguns dos mecanismos propostos que podem modular a progressão da insuficiência cardíaca em pacientes obesos incluem alterações nos níveis de citocinas e no perfil neurohumoral. O aumento de receptores para o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) nestes indivíduos, primeira especulação sobre o tema, poderia ter um papel cardioprotetor ao diminuir os efeitos catabólicos sistêmicos do TNF- α ^{13,14}. Além disso, pacientes com obesidade moderada podem ter reservas metabólicas maiores, que possibilitam tolerar melhor o estresse metabólico da própria patologia¹⁵. Os mecanismos para explicar este paradoxo da obesidade na insuficiência cardíaca ainda não estão claros na literatura e, até que sejam identificados, a causalidade não pode ser explicada de maneira satisfatória. Recomendações definitivas sobre peso ideal ainda não foram estabelecidas nesta população.

Outro aspecto importante é a forma de avaliação do estado nutricional e da composição corporal. A maioria dos estudos clínicos utiliza o IMC como parâmetro nutricional, e este índice é bastante limitado com relação à avaliação da composição e da distribuição de gordura corporal, os quais podem ser essenciais para o entendimento do real papel do tecido

adiposo na insuficiência cardíaca¹⁶. Dados sobre composição corporal mostram que baixa massa livre de gordura (MLG) está associada com pior recuperação e qualidade de vida¹⁷ e, também, aumento da mortalidade, considerando que a massa de músculo esquelético é determinante de força muscular periférica e capacidade de exercício^{17,18,19}. A redução da MLG pode ter como causa a desnutrição e a atividade inflamatória^{17,20}.

Já o tecido adiposo, através das adipocinas, pode exercer efeitos pró e anti-inflamatórios que resultam em alterações metabólicas importantes²¹. Sabe-se que o grau de adiposidade é o melhor parâmetro para a classificação de massa corporal nos indivíduos²². O IMC não é só um indicador que permite avaliar se um indivíduo tem ou não excesso de peso, é também um preditor da gordura corporal. Apesar de não representar a composição corporal, o IMC vem sendo utilizado como uma medida aproximada de gordura total, visto que apresenta uma forte correlação com a gordura corporal^{23,24}. Contudo, entre as limitações do uso do IMC está o fato de que este é um indicador pobre para avaliar distribuição da gordura corporal e pode superestimar a gordura em pessoas com elevada percentagem de tecido muscular e subestimar gordura corporal de pessoas que perderam massa muscular, como no caso de idosos²⁵. Recentemente foi publicado um estudo que comparou o IMC de 140 pacientes com insuficiência cardíaca com a DEXA (absorciometria de raios-x de dupla energia), uma forma mais precisa de medida de massa corporal gorda e magra. Os autores demonstraram que o valor de IMC levou a uma classificação equivocada do grau de adiposidade do corpo em 41% dos

pacientes²⁶. Assim, entre os pacientes com insuficiência cardíaca, o IMC pode não ser um bom indicador da adiposidade.

3. TECIDO ADIPOSO

O tecido adiposo já não é considerado apenas um órgão inerte de armazenamento de energia, mas, na realidade, um órgão endócrino que possui importantes funções metabólicas que estão estreitamente envolvidas na homeostase energética. As adipocinas por ele produzidas têm ações diversas e desempenham um papel importante na ação da insulina, no metabolismo lipídico e na regulação energética^{21,27}.

Considerando a diversidade estrutural e da variedade de funções já identificadas, sabe-se que as adipocinas compreendem também proteínas relacionadas ao sistema imune (TNF- α e interleucina-6), aos fatores de crescimento (fator transformador de crescimento- β), a via alternativa do complemento (adipsina), a regulação da pressão (angiotensinogênio), da coagulação sanguínea (inibidor do ativador de plasminogênio 1 – PAI-1), da homeostase glicêmica (adiponectina, resistina, visfatina, leptina) e da angiogênese (fator de crescimento endotelial vascular – VEGF), além de várias outras²⁸. Vários aspectos de deterioração física e metabólica na insuficiência cardíaca relacionados com a função reguladora humoral têm sido observados. Das adipocinas, a leptina e a adiponectina em particular, tem recebido maior atenção (Figura 1)²⁹.



Figura 1 – Resumo dos principais efeitos das adipocinas mais relevantes no sistema cardiovascular (Adaptado Gualillo O et al, 2007).

DM2 – diabetes mellitus tipo 2, IL – interleucina 6, MCP-1 – proteína quimiotática de monócitos-1, PAI-1 – inibidor do ativador de plasminogênio-1, TNF- α – fator de necrose tumoral α .

3.1 LEPTINA

A leptina, uma proteína de 16 kDa, foi identificada e caracterizada em 1994 através da clonagem do gene “ob” de camundongo e de seu homólogo em humano; tal fato constituiu o primeiro passo para que, posteriormente, se determinasse o produto do gene (a leptina) como uma proteína de 167 aminoácidos que é expressa principalmente no tecido adiposo^{30,31}. A leptina tem ação neuro-hormonal através de receptores expressos no sistema nervoso central (SNC) e ação autócrina com

receptores em tecidos periféricos. Atua na composição corporal promovendo aumento do metabolismo energético, com diminuição do apetite e da ingestão alimentar^{30,32,33}.

Receptores de leptina foram identificados no hipotálamo e em muitos outros tecidos³⁴. Seis formas do receptor da leptina (Ob-R) foram descritas e podem ser divididas em: isoforma longa (Ob-Rb), isoformas curtas (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Rf) e o receptor solúvel de leptina (Ob-Re)^{34,35,36}. O Ob-R é semelhante aos receptores dos membros da família classe I das citocinas³⁴. Quando a leptina e seu receptor foram descobertos, vários detalhes moleculares da sinalização mediada pelos receptores de citocina classe I e sua regulação fisiológica já eram, então, conhecidos.

3.1.1 Vias de sinalização da leptina

A principal via de sinalização intracelular da leptina é a via janus quinase/transdutor de sinal e ativador da transcrição (JAK/STAT)³⁷. A ligação da leptina ao seu receptor promove o recrutamento de outra unidade de receptor nas adjacências, formando uma estrutura dimérica que parece estar ativamente envolvida na sinalização pós-receptor³⁸. A enzima JAK2 se autofosforila em vários resíduos de tirosina, tornando-se ativa³⁷. Subsequentemente, a JAK2 ativada catalisa a fosforilação dos receptores Ob-Rb, criando três sítios ativos que darão continuidade ao sinal da leptina (Figura 2)³⁹.

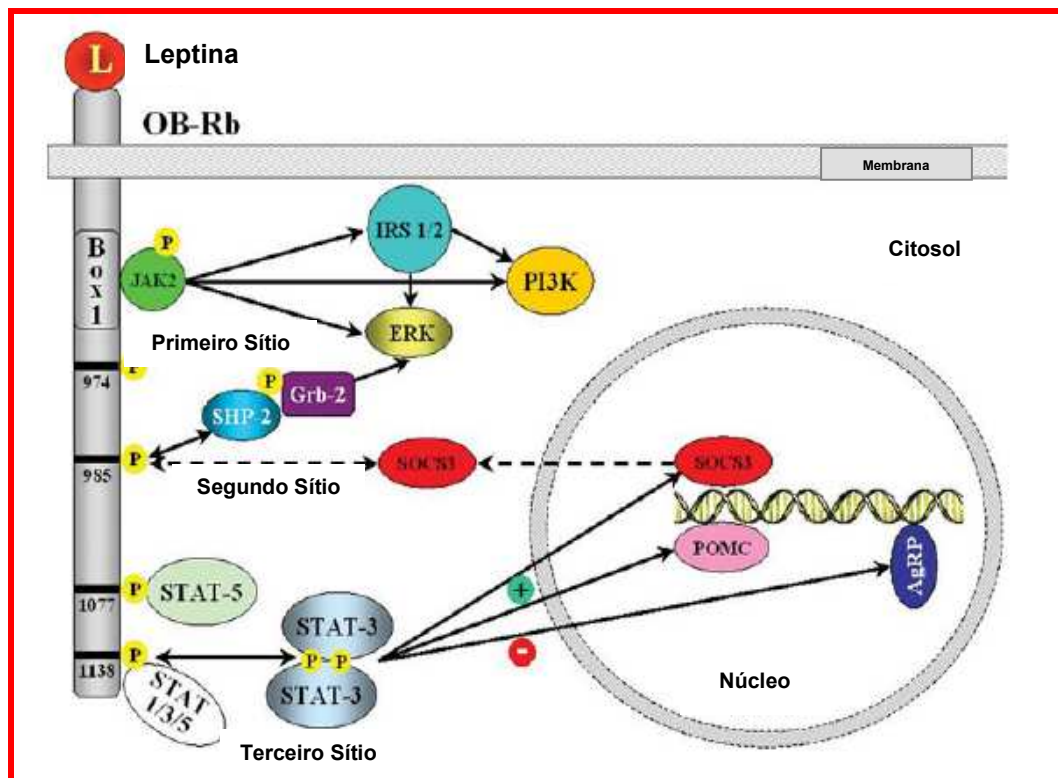


Figura 2 – Via de sinalização intracelular da leptina (Adaptado de Frühbeck, 2006).

AgRP – proteína relacionada ao Agouti, ERK – quinase regulada por sinal extracelular, Grb2 – fator de crescimento receptor-proteína 2, IRS – substrato receptor de insulina, JAK – janus quinase, Ob-Rb – isoforma longa do receptor da leptina, PI3K – fosfatidilinositol quinase 3, POMC – proopiomelanocortina, SOCS3 – supressor de sinalização de citocina 3, SHP2 – proteína tirosina fosfatase 2, STAT – transdutor de sinal e ativador da transcrição.

O primeiro sítio regula a liberação de neurotransmissores relacionados ao controle da fome e termogênese; no segundo a fosforilação das enzimas proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e quinase regulada por sinal extracelular (ERK) levam à expressão de genes específicos que atuam na proliferação e diferenciação celular; o terceiro sítio é responsável pela transcrição de genes codificadores de neurotransmissores responsivos ao sinal hormonal³⁹.

O RNA mensageiro (mRNA) da leptina é também expresso no coração e pode ser detectado no endotélio, músculo liso vascular e miocárdio, sugerindo efeitos autócrinos e parácrinos em adição aos mecanismos mediados pela leptina circulante³⁵. A descoberta dos receptores de leptina em vários órgãos periféricos permite a suposição de que ela atue no metabolismo como um verdadeiro hormônio pleiotrópico^{31,36}.

Quanto aos possíveis mecanismos celulares que contribuem para a atenuação da sinalização mediada pelo ObRb e, por conseguinte, para a resistência celular à leptina, um grande número de dados indica o papel de duas moléculas nesse processo: as proteínas tirosina fosfatase 1B (PTP1B) e o supressor de sinalização de citocina 3 (SOCS3). A molécula PTP1B desfosforila a JAK2, diminuindo a sinalização em cultura de células, e a sua deleção aumenta a sensibilidade à leptina⁴⁰. Já a proteína SOCS3 se liga ao resíduo de tirosina 985 do ObRb e a JAK2, comprometendo a sinalização em cultura de células⁴⁰. Em situações de hiperleptinemia sustentada, como ocorre na obesidade, o incremento na ativação basal do STAT3 resultaria no aumento da expressão do SOCS3, o que atenuaria o aumento esperado na sinalização pelo ObRb (Figura 3)⁴¹.

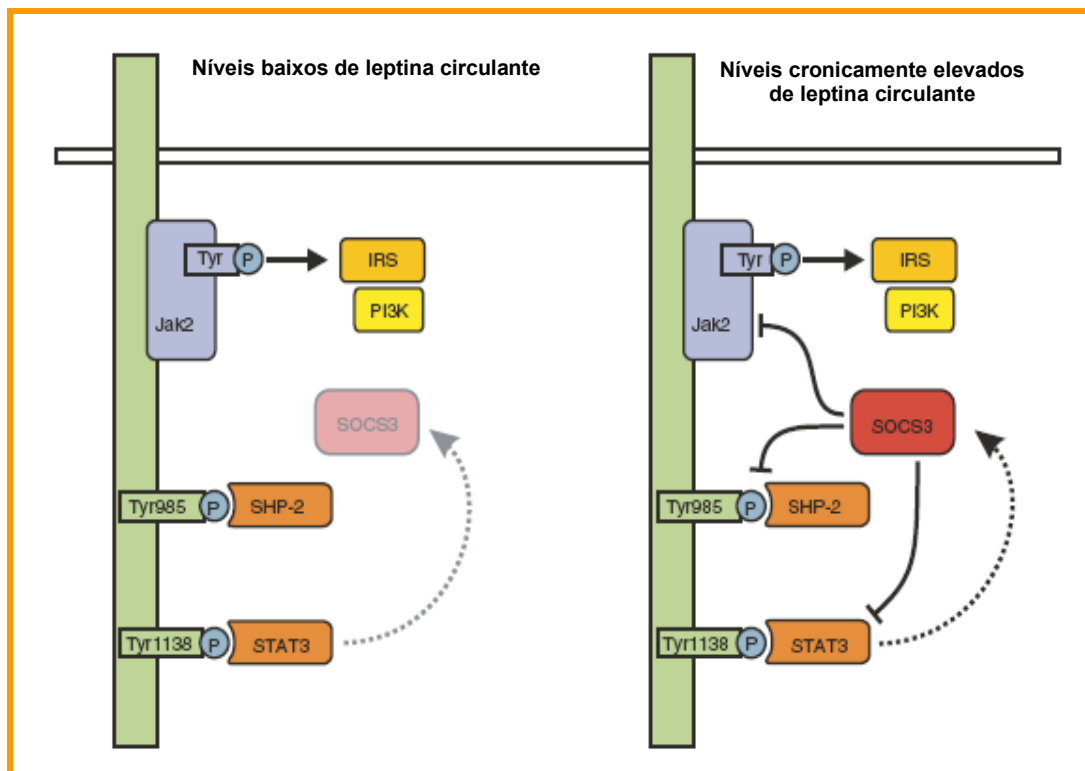


Figura 3 – Sinalização da leptina e papel da SOCS3 na atenuação do sinal do ObRb (Adaptado Münzberg et al, 2005).

JAK – janus quinase, PI3K – fosfatidilinositol quinase 3, SHP2 – proteína tirosina fosfatase 2, Try – tirosina, SOCS3 – supressor de sinalização de citocina 3, STAT - transdutor de sinal e ativador da transcrição.

3.1.2 Expressão e regulação da leptina

Vários fatores estão relacionados com a expressão gênica da leptina. O nível de mRNA ob no tecido adiposo e os níveis de leptina circulante estão diretamente relacionados com a quantidade de massa gorda (MG), como mostrado em estudos em humanos e roedores³¹⁻³³. A expressão do gene da leptina, no tecido subcutâneo abdominal em humanos, é muito maior em sujeitos obesos do que em magros, e há uma correlação positiva entre leptinemia e IMC³². A mesma correlação foi notada com massa de tecido adiposo, porcentagem de gordura corporal (%GC) e soma das

dobras cutâneas, numa larga escala para adiposidade (do magro ao muito obeso) e em homens e mulheres^{32,42}.

As concentrações séricas de leptina não se relacionam somente com o número de células adiposas, mas também com o tamanho do adipócito e podem ser consideradas como um marcador de reservas energéticas³². Em humanos, a maior parte da leptina circula no sangue ligada a proteínas transportadoras. Em indivíduos magros, com 21% ou menos de gordura corporal, 60 a 98% da leptina total encontra-se sob forma ligada⁴³. Existem, no entanto, relatos de alta correlação entre leptina na forma livre e obesidade, sugerindo que indivíduos obesos sejam resistentes à leptina livre⁴⁴.

Níveis séricos de leptina apresentam variação diurna e são significativamente maiores em mulheres do que em homens, tanto em pacientes como em indivíduos saudáveis, independentemente da existência ou não de obesidade⁴⁵. Os hormônios esteróides ovarianos, além de influenciar o comportamento alimentar e a regulação do peso corporal, podem também modificar a expressão do gene da leptina^{46,47}: mulheres na pré-menopausa têm níveis de leptina mais altos que mulheres na pós-menopausa⁴⁷.

O excesso na ingestão de alimentos provoca aumento nos níveis de mRNA da leptina, enquanto que o jejum causa redução sem que ocorram modificações notáveis no tecido adiposo⁴⁸. Entretanto, quando ambas as situações se normalizam ocorre restauração dos níveis basais de leptina. Outro fator que pode influenciar a expressão do gene da leptina, reduzindo seus níveis circulantes, é o exercício físico⁴⁹.

A expressão da leptina parece também ser aumentada pela ação da insulina^{48,50}, glicocorticoides⁵⁰, citocinas inflamatórias (TNF- α e interleucina (IL) -1), prolactina, e em condições de insuficiência renal e inflamação aguda. Por outro lado, catecolaminas, agonistas dos receptores β -adrenérgico e hormônios tireoidianos constituem reguladores negativos. Resultados adicionais, em animais e humanos, sugerem que níveis elevados de leptina possam ocorrer em associação, tanto com a obesidade quanto com a caquexia^{51,52,53}.

3.1.3 Ações da leptina no sistema nervoso central

Existem numerosos fatores neuroendócrinos que regulam a ingestão de alimentos e o balanço energético (Figura 4). A ação da leptina no hipotálamo sofre importante controle por vias paralelas de sinalização celular, sendo a insulina, um dos principais moduladores do sinal da leptina^{48,50}. A ação da leptina no SNC promove a redução da ingestão alimentar e o aumento do gasto energético. A propriedade inibidora do apetite deve-se ao mecanismo de sinalização desta no hipotálamo, inibindo a produção e/ou liberação do neuropeptídeo Y (NPY). O NPY é uma substância com grande efeito estimulante sobre o apetite⁵⁴.

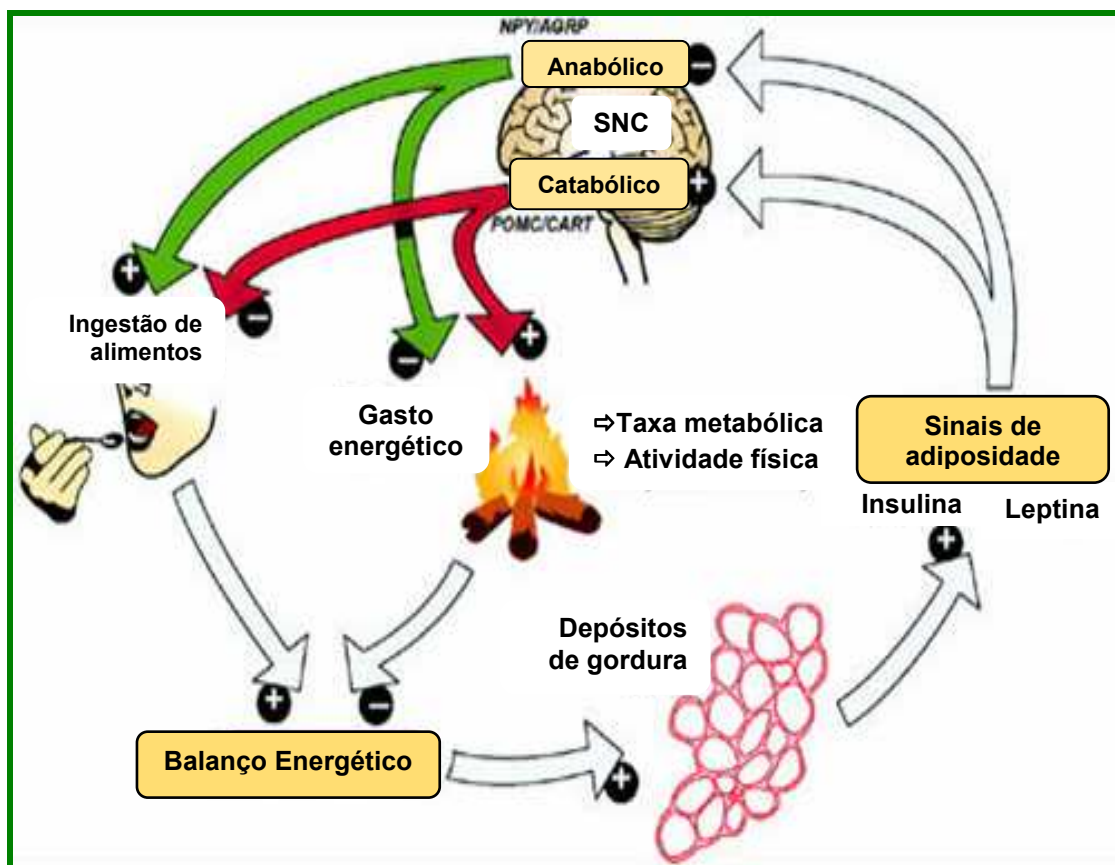


Figura 3 – Leptina e balanço energético (Adaptado American Diabetes Association, 2003).

NPY – neuropeptídeo Y, AgRP – proteína relacionada ao Agouti, POMC – proopiomelanocortina, CART – neuropeptídeo regulador da transcrição da cocaína e anfetamina

Sendo assim, quanto mais leptina estivesse sendo produzida e atuando no hipotálamo, tanto mais equilibrados seriam a ingestão alimentar, o gasto energético e o peso dos indivíduos. No entanto, estudos verificaram que hiperleptinemia pode ser encontrada em indivíduos obesos. Nesses indivíduos, não se observa resposta adequada às ações do hormônio, caracterizando um estado de relativa resistência à leptina³², de modo semelhante ao que ocorre com a resistência à insulina no DM tipo 2. A resistência à leptina está associada com o desenvolvimento da obesidade⁵⁵, e está relacionada com o metabolismo da insulina e da

glicose⁵⁰.

A maioria dos indivíduos obesos apresenta níveis elevados de leptina. A deficiência (mutação no gene da leptina) ou a resistência à ação da leptina (mutação no gene do receptor de leptina) resulta em aumento de NPY no hipotálamo⁵⁵. Quando a leptina é ineficaz para reduzir a produção de NPY, um círculo vicioso se estabelecerá, com deposição de gordura ou obesidade, dependendo da ingestão alimentar. Outro fator que poderia afetar a disponibilidade da leptina no hipotálamo é a forma como esta circula no sangue. Em roedores magros e humanos, grande porcentagem de leptina circula ligada a proteínas, enquanto que em obesos a forma livre predomina⁵⁶, isto sugere uma maior resistência à leptina na obesidade. Alterações na proteína de ligação podem alterar a bioatividade, o transporte e/ou a depuração de leptina⁵⁷.

3.1.4 Ações periféricas da leptina

Além da ação sobre o SNC, a leptina tem ainda ações periféricas importantes. A propriedade de modificar o gasto de energia deve-se ao fato da leptina estimular as ações da norepinefrina (NOR) e a lipólise, aumentando a termogênese. Por estimulação do sistema nervoso simpático (SNS), a leptina aumenta a liberação de NOR que age em adipócitos, via AMPcíclico e proteína quinase A (PKA), estimulando a transcrição do gene para proteínas desacopladoras da fosforilação oxidativa (UCPs)⁵⁸. Isto leva a um aumento no gasto de energia no tecido adiposo, com estímulo à lipólise.

Desde os estudos iniciais, a relação entre insulina e o gene ob/ob foi muito clara: ratos obesos com este gene eram também diabéticos^{30,31}. Adicionalmente, foi constatado que existem receptores de leptina no pâncreas e que esta reduz a secreção de insulina e a hiperinsulinemia dos ratos ob/ob⁵⁹. Alguns achados sugerem que a leptina tem um poder inibidor agudo e efetivo na secreção pancreática da insulina.

Em roedores, a leptina aumenta a atividade do SNS. Injeções de leptina no ventrículo cerebral aumentam a atividade do SNS e reduzem o fluxo de sangue arterial para o músculo esquelético. Elevação crônica de leptina no SNC induz taquicardia e hipertensão em ratos⁶⁰. Estudos em animais e humanos indicam que a leptina pode ter um papel importante nas DCV relacionadas com a obesidade. O estímulo à geração de radicais livres, o aumento da produção de endotelinas e a agregação plaquetária podem contribuir para a hipertensão, a disfunção endotelial e a aterosclerose, em indivíduos obesos^{61,62} (Figura 5).

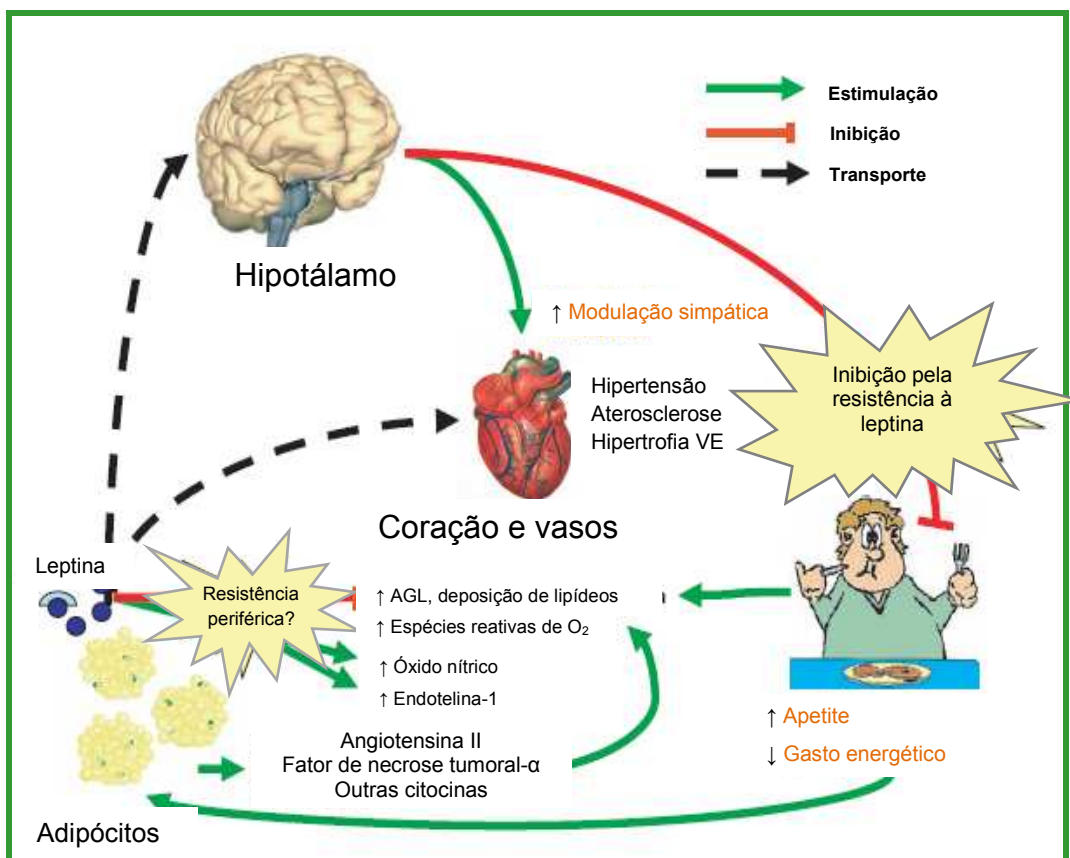


Figura 5 – Funções sistêmicas da leptina e sua associação com doenças cardiovasculares (Adaptado Yang R et al, 2007).

AGL – ácidos graxos livres, O₂ - oxigênio.

3.2 LEPTINA E SISTEMA CARDIOVASCULAR

O coração parece ser um local de produção de leptina: Aumento da expressão da leptina é visto após reperfusão pós-isquemia, e a concentração de leptina está aumentada em soro com cultura de cardiomiócitos submetidos a tratamento com endotelina-1 e angiotensina II⁶³. Em adição aos seus efeitos metabólicos, a leptina exerce também ações complexas no sistema cardiovascular como o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo, remodelamento vascular e formação da neo-íntima, bem como a hipertrofia dos

cardiomiócitos^{63,62} (Figura 6).

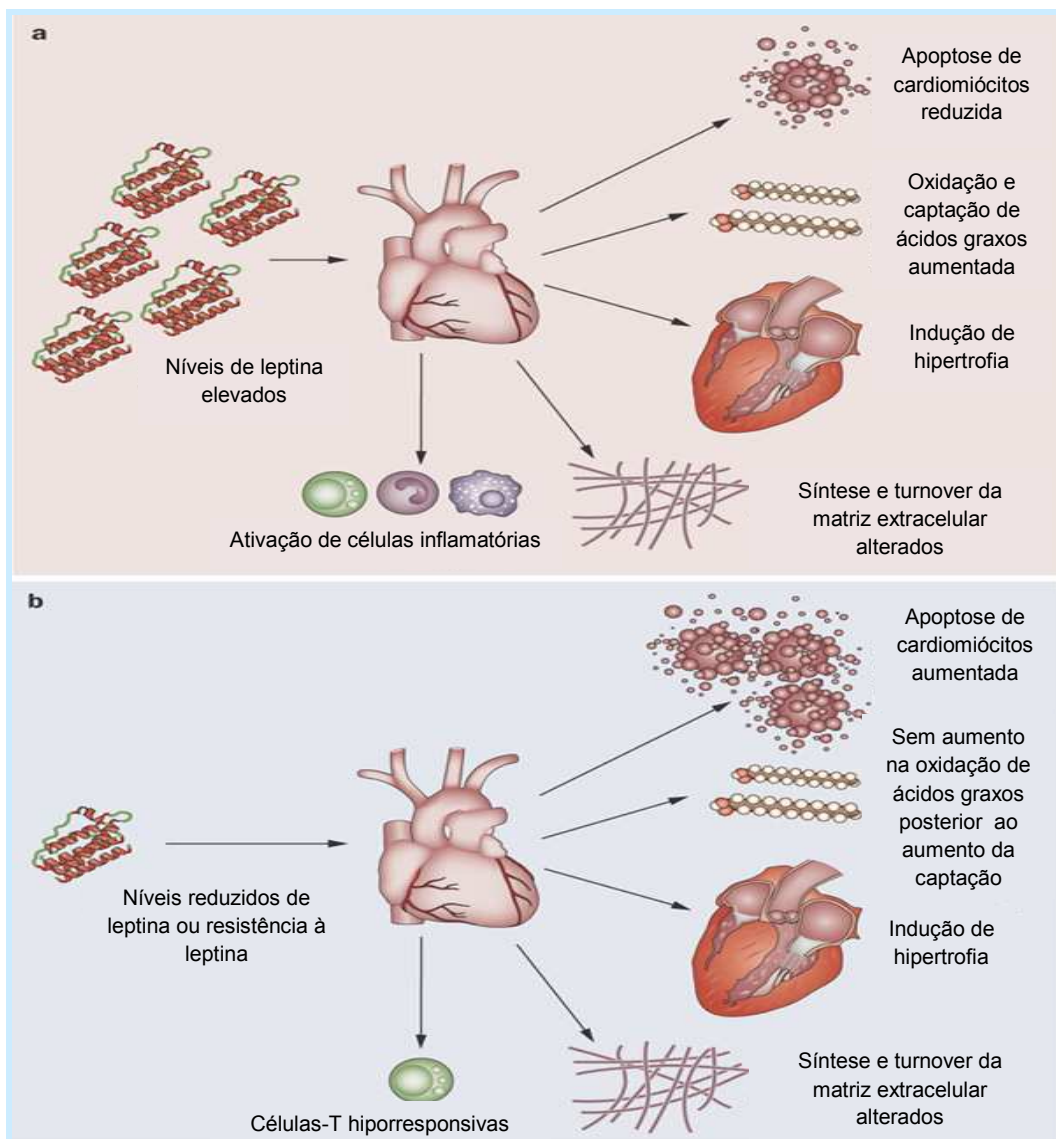


Figura 6 – Efeitos diretos da leptina no coração. (A) Efeitos de níveis elevados de leptina. (B) Efeitos da redução dos níveis de leptina ou resistência à leptina (Adaptado Sweeney G, 2010).

3.3 LEPTINA E INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Alterações nos níveis circulantes de leptina e seus receptores têm sido descritos em pacientes com insuficiência cardíaca^{51,52,65}. Acredita-se que

anormalidades da leptina na insuficiência cardíaca estão relacionadas com a resistência insulínica, ativação de citocinas e intolerância ao exercício^{66,67}. Os efeitos catabólicos da leptina no músculo esquelético podem contribuir para limitações respiratórias e funcionais observadas na insuficiência cardíaca^{66,67}.

Hiperleptinemia correlaciona-se com os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α . Pacientes com insuficiência cardíaca também apresentam uma correlação positiva entre níveis de leptina e insulina, que pode estar correlacionado com o aumento do gasto energético nestes pacientes^{51,66,67}. Níveis elevados de leptina podem contribuir para a perda de peso inexplicável e redução da massa gorda que se observa comumente na insuficiência cardíaca avançada. Além do mais, os níveis elevados de leptina contribuem para a ativação do sistema nervoso simpático verificado na insuficiência cardíaca⁶⁴.

Estudos sugerem que algumas adipocinas como a leptina podem estar envolvidas no remodelamento cardíaco em pacientes com insuficiência cardíaca⁶⁸ (Figura 7). “In vitro”, a leptina promove hipertrofia dos cardiomiócitos, produção de radicais livres, aumento do consumo de oxigênio pelo coração e diminuição da eficiência cardíaca após lesão e desta forma contribui para o remodelamento cardíaco e progressão da insuficiência cardíaca^{64,69,70,71}.

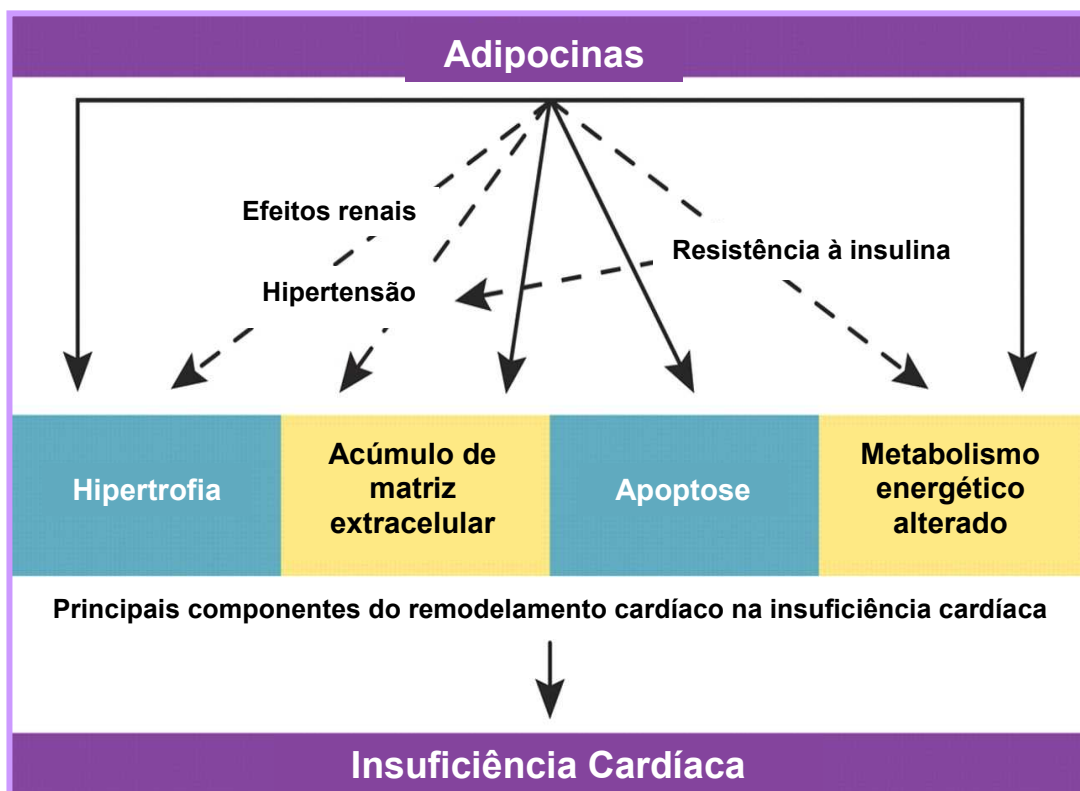


Figura 7 – Potenciais efeitos diretos e indiretos de adipocinas no remodelamento cardíaco (Adaptado Abel, E. D. et al. 2008).

Sabe-se que o grau de insuficiência cardíaca, independentemente de etiologias distintas, está associado com uma dilatação progressiva do ventrículo esquerdo. Alguns investigadores têm demonstrado fortes evidências de que a leptina induziria diretamente a hipertrofia tanto em cardiomiócitos humanos ou de roedores^{64,70,71}. Os dados aqui relatados apontam de que a leptina possa de alguma forma contribuir para alterações estruturais associadas ao desenvolvimento do remodelamento ventricular em pacientes com insuficiência cardíaca e obesidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michl K, Oates JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW. Guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(15):e1-e90.
2. Bocchi EA, Braga FGM, Ferreira SMA, Rohde LEP, Oliveira WA, Almeida DR, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz de insuficiência cardíaca crônica. *Arq Bras Cardiol* 2009; 93(supl 1):1-71.
3. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a Consensus Paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. On behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:569-582.
4. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer M. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet* 2006; 367:356-367.
5. von Haehling S, Doehner W, Anker SD. Nutrition, metabolism, and the complex pathophysiology of cachexia in chronic heart failure. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 298-309.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 1998.
7. Baena-Díez JM, Byram AO, Grau M, Gómez-Fernández C, Vidal-Solsona M, Ledesma-Ulloa G, González-Casafont I, Vasquez-Lazo J, Subirana I, Schroder H. Obesity Is an Independent Risk Factor for Heart Failure: Zona Franca Cohort Study. *Clin Cardiol* 2010; 33(12):760-4.

8. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PWF, Benjamin EJ, Larson MG, Kannel WB, Varsan RS. Obesity and risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002; 347:305-13.
9. Curtis JP, Selter JG, Wang Y, Rathore SS, Jovin IS, Jadbabaie F, Kosiborod M, Portnay EL, Sokol SL, Bader F, Krumholz HM. The Obesity Paradox Body Mass Index and Outcomes in Patients With Heart Failure. *Arch Intern Med* 2005; 165(1):55-61.
10. Kenchaiah S, Pocock SJ, Wang D, Finn PV, Zornoff LA, Skali H, Pfeffer MA, Yusuf S, Swedberg K, Michelson EL, Granger CB, McMurray JJ, Solomon SD, CHARM Investigators. Body Mass Index and Prognosis in Patients with Chronic Heart Failure: Insights From the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) Program. *Circulation* 2007; 116(6):627-636.
11. Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, MacLellan WR, Woo MA, Tillisch JH. The relationship between obesity and mortality in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:789-795.
12. Fonarow GC, Srikanthan P, Costanzo MR. An obesity paradox in acute heart failure: Analysis of body mass index and inhospital mortality for 10927 patients in the Acute Decompensated Heart Failure National Registry. *Am Heart J* 2007; 153(1):74-81.
13. Berry C, Clark AL. Catabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2000; 21:521–532.
14. Feldman AM, Combes A, Wagner D, Kadakomi T, Kubota T, Li YY, McTiernan C. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:537– 44.

15. Oreopoulos A, Padwal R, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, McAlister FA. Body mass index and mortality in heart failure: a meta-analysis. *Am Heart J* 2008; 156:13–22.
16. Sagar UN, Ahmed MM, Adams S, Whellan DJ. Does body mass index really matter in the management of heart failure? A review of literature. *Cardiol Rev* 2008; 16(3):124-128.
17. Soeters PB, Schols AMWJ. Advances in understanding and assessing malnutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12:487–494.
18. Hußmann M, Quittan M, Berger R, Crevenna R, Springer C, Nuhr M, Mörtl D, Moser P, Pacher R. Muscle strength as a predictor of long-term survival in severe congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004; 6:101–107.
19. Mroszczyk-McDonald A, Savage PD, Ades P. Handgrip strength in cardiac rehabilitation: normative values, interaction with physical function, and response to training. *J Cardiopulm Rehabil* 2007; 27:298–302.
20. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Bulmer K, Holly JM, Yudkin JS, Coppack SW. Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Am J Physiol* 1999; 277:E971-5.
21. Gurushankar Govindarajan, MD, Martin A. Alpert, MD, Lokesh Tejwani, MD. Endocrine and metabolic effects of fat: cardiovascular implications. *Am J Med* 2008; 121(5):366-70.
22. Sun Q, van Dam RM, Spiegelman D, Heymsfield SB, Willett WC, Hu FB. Comparison of Dual-Energy X-Ray Absorptiometric and Anthropometric Measures of Adiposity in Relation to Adiposity-Related Biologic Factors. *Am J Epidemiol* 2010; 172(12):1442-54.

23. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, Allisin TG, Batáís JA, Kuniyoshi FH, Lopez-Jimenez F. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32:959-966.
24. Taylor AE, Ebrahim S, Ben-Shlomo Y, Martin RM, Whincup PH, Yarnell JW, Wannamethee SG, Lawlor DA. Comparison of the associations of body mass index and measures of central adiposity and fat mass with coronary heart disease, diabetes, and all-cause mortality: a study using data from 4 UK cohorts. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:547–556.
25. Seidell JC, Visscher TL. Body weight and weight change and their health implications for the elderly. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54(Suppl 3):S33–S39.
26. Oreopoulos A, Ezekowitz JA, McAlister FA, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, Johnson JA, Padwal RS. Association between direct measures of body composition and prognostic factors in chronic heart failure. *Mayo Clin Proc* 2010; 85(7):609-17.
27. Luc F, Van Gaal, Ilse L, Mertens, Christophe E, De Block. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 2006; 444(14):875-880.
28. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006; 444(14):847-853.
29. Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17(8):275-83.
30. Zhang Y, Proença R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425–432.

31. Ogawa Y, Masuzaki H, Isse N, Okazaki T, Mori K, Shigemoto M, Satoh N, Tamura N, Hosoda K, Yoshimora Y, Jingami H, Kawada T, Nakao K. Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rats. *J Clin Invest* 1995; 96: 1647 – 1652.
32. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334:292–295.
33. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395:763-770.
34. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83:1263–1271.
35. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbert RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; 84:491– 495.
36. Lee GH, Proença R, Montez JM, Carrol KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JN. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996; 379:632-635.

37. Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S, Vandekerckhove J, Tavernier J. The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett* 2003; 546(1):45-50.
38. White DW, Kuropatwinski KK, Devos R, Baumann H, Tartaglia LA. Leptin receptor (OB-R) signaling. Cytoplasmic domain mutational analysis and evidence for receptor homo-oligomerization. *J Biol Chem* 1997; 272(7):4065-71.
39. Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J* 2006; 393(Pt 1):7-20.
40. Bence KK, Delibegovic M, Xue B, Gorgun CZ, Hotamisligil GS, Neel BG, Kahn BB. Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action. *Nat Med* 2006; 12(8):917-24.
41. Münzberg H, Myers MG Jr. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci* 2005; 8(5):566-70.
42. McConway MG, Johnson D, Kelly A, Griffin D, Smith J, Wallace AM. Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann Clin Biochem* 2000; 37:717-723.
43. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Becker GW, Bowsher RR, Stephens TW, Caro JF. Evidence of free and bound leptin in human circulation: studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996; 98:1277-1282.
44. Magni P, Liuzzi A, Ruscica M, Dozio E, Ferrario S, Bussi I, Minocci A, Castagna A, Motta M, Savia G. Free and bound plasma leptin in normal weight and obese men and women: relationship with body composition,

- resting energy expenditure, insulin-sensitivity, lipid profile and macronutrient preference. *Clin Endocrinol* 2005; 62:189-196.
45. Hellström L, Wahrenberg H, Hruska K, Reynisdottir S, Arner P. Mechanisms behind gender differences in circulating leptin levels. *J Intern Med* 2000; 247:457-462.
 46. Casabiell X, Piniero V, Peino R, Lage M, Camina J, Gallego R, Vellejo LG, Dieguez C, Casanueva FF. Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2149-2155.
 47. Rosenbaum M, Leibel RL. Role of gonadal steroids in the sexual dimorphisms in body composition and circulating concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1784-1789.
 48. Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Leturque A, Girard J, Staels B, Auwerx J. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377:527-529.
 49. Essig DA, Alderson NL, Ferguson MA, Bartoli WP, Durstine JL. Delayed effects of exercise on the plasma leptin concentration. *Metabolism* 2000; 49:395-399.
 50. Lewandowski K, Randevara HS, O'callaghant CJ, Horn R, Medley GF, Hillhouse EW, Brabant G, O'Hare P. Effects of insulin and glucocorticoids on the leptin system are mediated through free leptin. *Clin Endocrinol* 2001; 54:533-539.
 51. McEntegart MB, Awede B, Petrie MC, Sattar N, Dunn FG, MacFarlane NG, McMurray JJ. Increase in serum adiponectin concentration in patients

- with heart failure and cachexia: relationship with leptin, other cytokines, and B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J* 2007; 28(7):829-35.
52. Schulze PC, Kratzsch J, Linke A, Schoene N, Adams V, Gielen S, Erbs S, Moebius-Winkler S, Schuler G. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2003; 5:33-40.
53. von Haehling S, Lainscak M, Springer J, Anker SD. Cardiac cachexia: a systematic overview. *Pharmacol Ther* 2009; 121(3):227-52.
54. Stephens TWM, Basinski PK, Bristow JM, Bue-valleskey SG, Burgett L, Craft J, Hale J, Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, Mackellar W, Rosteck PR, Schoner B, Smith D, Tinsley FC, Zhang XY, Heiman M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377:530–532.
55. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348:159-161.
56. Houseknecht KL, Mantzoros CS, Kuliwat R, Hadro E, Flier JS, Kahn BB. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. *Diabetes* 1996; 45:1638-1643.
57. Stenvinkel P, Lönnqvist F, Schalling M. Molecular studies of leptin: implications for renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:1103-1112.
58. Boss O, Muzzin P, Giacobino JP. The uncoupling proteins, a review. *Eur J Endocrinol* 1998; 139:1-9.

59. Emilsson V, Liu Y-L, Cawthorne MA, Morton NM, Davenport M. Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes* 1997; 46:313-316.
60. Dunbar JC, Hu Y, Lu H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. *Diabetes* 1997; 46:2040-2043.
61. Shek E, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension* 1998; 31(1 Pt 2):409-414.
62. Ren J. Leptin and hyperleptinemia – from friend to foe for cardiovascular function. *J Endocrinol* 2004; 181:1-10.
63. Yang R, Barouch LA. Leptin signaling and obesity: cardiovascular consequences. *Circ Res* 2007; 101(6):545-59.
64. Sweeney G. Cardiovascular effects of leptin. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7:22–29.
65. Leyva F, Anker SD, Egerer K, Stevenson JC, Kox WJ, Coats AJ. Hyperleptinaemia in chronic heart failure. Relationships with insulin. *Eur Heart J* 1998; 19:1547– 51.
66. Filippatos GS, Tsilias K, Venetsanou K, Karambinos E, Manolatos D, Kranidis A, Antonellis J, Kardaras F, Anthopoulos L, Baltopoulos G. Leptin serum levels in cachectic heart failure patients. Relationship with tumor necrosis factor-alpha system. *Int J Cardiol* 2000; 76:117–22.
67. Doehner W, Pflaum CD, Rauchhaus M, Godsland IF, Egerer K, Ciccoira M, Florea VG, Sharma R, Bolger AP, Coats AJ, Anker SD, Strasburger CJ. Leptin, insulin sensitivity and growth hormone binding protein in chronic

- heart failure with and without cardiac cachexia. *Eur J Endocrinol* 2001; 145:727–35.
68. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev* 2008; 88:389–419.
69. Madani S, De Girolamo S, Munoz DM, Li RK, Sweeney G. Direct effects of leptin on size and extracellular matrix components of human pediatric ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 2006; 69:716–725.
70. Rajapurohitam V, Gan XT, Kirshenbaum LA, Karmazyn M. The obesity-associated peptide leptin induces hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. *Circ Res* 2003; 93:277–279.
71. Xu FP, Chen MS, Wang YZ, Yi Q, Lin SB, Chen AF, Luo JD. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation* 2004; 110:1269–1275.

RACIONAL DOS ESTUDOS

A insuficiência cardíaca configura-se como a mais importante causa de internação hospitalar entre as DCV no Brasil. A obesidade é um fator de risco independente para doença cardiovascular e mortalidade na população em geral. Numerosos estudos têm demonstrado que um elevado IMC está associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, incluindo insuficiência cardíaca. Entretanto, a obesidade na insuficiência cardíaca é um assunto controverso. Estudos sugerem que sobrepeso e obesidade podem, paradoxalmente, melhorar a sobrevida dos pacientes com insuficiência cardíaca^{10,11,12}. Apesar dos estudos descreverem esta relação inversa entre IMC elevado e melhora da sobrevida em pacientes com insuficiência cardíaca, os mecanismos justificando esta associação inversa, ainda não estão claros.

Níveis séricos de leptina estão associados com HAS relacionada à obesidade e insuficiência cardíaca em seres humanos, e disfunção endotelial e miocárdica em modelos animais⁶³. O papel da leptina e resistência à leptina na patogênese da insuficiência cardíaca e das alterações miocárdicas estruturais associadas ainda é controverso.

Uma vez que a maior parte dos estudos utiliza o IMC para avaliar esta relação positiva, componentes específicos do estado nutricional como composição corporal e distribuição de gordura não são avaliados de maneira específica e detalhada. Assim, o presente estudo poderá contribuir para o entendimento da associação entre adiposidade, níveis de leptina e alterações estruturais do ventrículo esquerdo em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica.

HIPÓTESE

Níveis elevados de leptina, associados com índices de gordura corporal, são preditores de alterações estruturais do ventrículo esquerdo em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar adiposidade central e níveis de leptina em pacientes estáveis com insuficiência cardíaca sistólica e a associação com alterações estruturais do ventrículo esquerdo.

Objetivos específicos

1. Investigar as características clínicas e ecocardiográficas de pacientes com insuficiência cardíaca, segundo a obesidade central (gordura abdominal);
2. Identificar a diferença de gênero nas características clínicas e ecocardiográficas em pacientes com insuficiência cardíaca, segundo a adiposidade abdominal;
3. Avaliar a associação entre os níveis de leptina e parâmetros ecocardiográficos de alterações estruturais e funcionais do ventrículo esquerdo.

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

**Body composition, adiposity and leptin in men and women with systolic
heart failure: association with cardiac structural changes**

Abstract

Background: While obesity increases heart failure risk, it seems to paradoxically result in better prognosis in patients with established heart failure. Body mass index (BMI), traditionally used to define obesity, may not be able to discriminate fat and lean mass, fat distribution, and differences in adiposity between men and women. Leptin, an adipokine produced by the adipose tissue, has cardiovascular effects in experimental models but little is known regarding its role in patients with heart failure. Thus, we hypothesized that increased central adiposity and higher leptin levels are associated with structural left ventricle (LV) changes in patients with stable heart failure due to systolic dysfunction.

Objectives: To evaluate gender-specific clinical and echocardiographic characteristics of heart failure patients according to central adiposity (abdominal body fat), and the association between serum leptin levels and echocardiographic parameters of LV structural and functional changes.

Methods: Outpatients with stable heart failure and LV systolic dysfunction were studied. Healthy subjects, matched for BMI and age, formed the control group. We measured routine biochemical exams in addition to C reactive protein, insulin, tumor necrosis factor (TNF)- α and leptin. Densitometry to assess body composition and echocardiogram were performed according to standard protocols.

Results: We studied 55 patients and 25 control individuals. The two groups were similar regarding age, BMI and body fat percentage (all $p > 0.3$), with no difference in leptin levels. The majority of heart failure patients were overweight with mean BMI of 26.6 ± 4.1 kg/m² and body fat percentage of

27.8 ± 6.2 %. Mean ejection fraction was 30 ± 8 %. There was a weak correlation between body fat and BMI; women had significantly increased body and abdominal fat compared to men despite similar BMI. Leptin levels were higher in women, directly correlated with wall thickening and inversely correlated to LV diameter, independent from blood pressure and gender.

Conclusions: Our data suggest that leptin may be an important determinant of structural cardiac changes associated with abdominal adiposity in the progression of heart failure. Whether this mechanistic interplay may partially be involved in the obesity paradox of heart failure deserves further exploratory studies.

Introduction

Obesity is associated with increased incidence of heart failure¹. However, the role of obesity in heart failure is controversial. Studies suggest that overweight and obesity, generally defined by body mass index (BMI) criteria, are paradoxically associated to better survival in patients with heart failure²⁻⁴. However, BMI does not discriminate between fat and lean mass⁵; nor between central and general adiposity, which may have different clinical implications⁶. In fact, it is well known that abdominal fat has distinct prognostic impact in cardiovascular disease⁷. Furthermore, BMI may not be able to differentiate clinically relevant differences in adiposity between men and women⁸. Thus, better discrimination of body fat composition may help to clarify the role of adiposity in the scenario of heart failure with systolic dysfunction.

Adipose tissue is no longer considered an inert energy storage element, but rather an extremely active organ that helps to mediate energy homeostasis and whose activity is delicately regulated by a complex network of autocrine, paracrine, and neuroendocrine signals⁹. There are numerous cytokines secreted by adipocytes playing important roles in the regulation of energy homeostasis, insulin action, and lipid metabolism¹⁰. Leptin is the product of the obesity gene; it regulates appetite, causes weight loss and increases sympathetic nerve activity¹¹. In addition to its metabolic effects, leptin also exerts complex effects on the cardiovascular system such as increased production of proinflammatory cytokines and oxidative stress, vascular remodeling and neointima formation¹². Several reports have shown that leptin induces hypertrophy in both human and rodent cardiomyocytes

^{13,14,15}. Also, there is evidence indicating a relationship between plasma leptin levels and left ventricular (LV) wall thickness in hypertensive patients¹⁶. These findings suggest a relationship between leptin and LV hypertrophy that, however, has not been examined *vis a vis* the LV remodeling process seen in patients with heart failure due to systolic dysfunction.

Cardiac remodeling is a key feature in heart failure. More recently it has been suggested that there are four different remodeling patterns associated to symptomatic heart failure, regardless of LV systolic function, with potential different physiopathological and therapeutic implications. In particular, LV hypertrophy seems to be prevalent, regardless of a concentric or eccentric phenotype, being associated with both preserved and low ejection fraction conditions¹⁷. Whether leptin, by reflecting increased adiposity, can be involved in the development of progressive increase in wall thickening associated with LV structural phenotype in heart failure patients with systolic dysfunction remains unexplored.

In this study we hypothesized that increased central adiposity and higher leptin levels are associated with structural LV changes in patients with stable heart failure due to systolic dysfunction. We thus evaluated 1) the gender-specific clinical and echocardiographic characteristics of heart failure patients according to central adiposity (abdominal body fat) and 2) the association between serum leptin levels and echocardiographic parameters of LV structural and functional changes.

Subjects and Methods

Subjects

Patients with heart failure and control subjects were recruited from a tertiary-care university hospital in Porto Alegre, Brazil. Consecutive eligible patients who agreed to participate were enrolled from the Heart Failure Clinic between April 2009 and November 2010. Eligibility criteria were: age between 18 and 70 years, prior or current symptoms of heart failure, LV ejection fraction (LVEF) assessed by two-dimensional echocardiography $\leq 45\%$, and BMI higher than 20 kg/m^2 . Patients with clinical evidence of decompensated heart failure (worsening symptoms with signs of congestion, or the need for increasing diuretic dosage), and hospitalization in the previous 60 days were excluded. Additional exclusion criteria were: severe renal failure (serum creatinine level $> 2.5 \text{ mg/dL}$), peripartum and toxic etiologies, weight instability (changes higher than 5% of body weight within the previous 6 months), inability to lay flat, weight higher than the limit for the use of the dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) scan (116 kg), diabetes; serious liver diseases (cirrhosis or active hepatitis); chronic inflammatory or infectious diseases and active malignancy.

Healthy individuals matched to heart failure patients for age, sex and BMI formed the control group. Subjects were recruited by newspaper advertisements and by screening from cardiology clinics, without symptoms or signs of heart failure, no history of diabetes, while maintaining weight stability (without variations over 2 kg) within the previous 6 months.

The study protocol was approved by the local institutional review board. All subjects provided written informed consent prior to enter the study.

Laboratory Analysis

Blood samples (15 mL) were collected in the morning after a fasting period of 12 hours. Hemogram, sodium, creatinine, glucose, lipid assays, insulin and high sensitivity C reactive protein (CRP) concentrations were measured on the same day, using standard routine protocols. The homeostasis model assessment (HOMA-IR), an index of insulin resistance (IR), was calculated using the following validated formula: $\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin } (\mu\text{U/mL}) \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$.

For leptin and tumor necrosis factor (TNF)- α measurements, blood samples were collected into anticoagulant-free tubes after a 30-minute resting period in supine position. Samples were cold centrifuged at 4° C at 3,000 g during 20 minutes, and serum was stored frozen at -70° C for subsequent blind analyses performed simultaneously at the end of enrollment. Leptin concentrations were determined by radioimmunoassay (Human leptin radioimmunoassay, Linco®, Millipore, St. Charles, MO). The sensitivity of the method is 0.5 ng/mL and the inter-assay and intra-assay coefficients were 6.2% and 8.3%, respectively. In accordance with the manufacturer, the normal range for individuals with a BMI from 18 to 25 kg/m² is $3.8 \pm 1.8 \mu\text{g/L}$ for males and $7.4 \pm 3.7 \mu\text{g/L}$ for females.

Levels of TNF- α were measured by ELISA assays (Human TNF- α , Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Sensitivity for TNF- α assay was 0.5 pg/mL; inter-assay and intra-assay coefficients of variation

were 7.4% and 5.2%, respectively. All samples were run in duplicate and the average value of the two measurements was reported.

Dual-Energy X-Ray Absorptiometry

Body composition was measured by DEXA performed with a Hologic QDR-4500A (Hologic, Inc., Bedford, MA, USA), software version 8.26. Scans were analyzed using the whole-body fan beam method to determine lean mass and fat mass, providing the following parameters: body fat percentage, abdominal fat percentage, lean mass, and bone mass. Patients were asked to refrain from drinking more than 500 mL of fluid one hour before their scan. Weight and height were measured by standard techniques. Body mass index was calculated as the weight in kilograms divided by the square of the height in meters (kg/m^2).

Echocardiography

Index two-dimensional and Doppler echocardiography was performed as previously described¹⁸ using a commercially available equipment (ATL HDI 5000, Bothel, WA, USA) with a 2.5-Mhz phased-array transducer based on the lower limit cutoff suggested by the recommendations for chamber quantification of the American Society of Echocardiography¹⁹. Ejection fraction was calculated according to the Teicholz or Simpson's methods, appropriately. Left ventricular end systolic and diastolic dimensions (LVEDD and LVESD, respectively) and LV volumes were indexed for body surface area (BSA)¹⁹. Left ventricular mass (LVM) was calculated according to the regression equation of Devereux et al: $0.80 \times (1.04 \times (\text{LVED} + \text{IVS} + \text{PW})^3 -$

(LVED) ³) + 0.6 g¹⁹. Left ventricular mass was indexed by height raised to the power 2.7²⁰. Mass/volume ratio was calculated as LV mass/LV diastolic volume¹⁷. Relative wall thickness (RWT) was calculated as: (2*(PWT)/LVEDD, where PWT is posterior wall thickness²⁰.

Statistical analysis

Continuous data are reported as mean ± SD or median (interquartile range) and categorical variables are reported as absolute numbers and percentages. Patients were divided first into three groups according to tertiles of abdominal fat percentage; then, men and women were divided in two groups: above and below abdominal fat percentage median. Due to the skewed distribution, metabolic variables and leptin were log-transformed for statistical analysis. Groups were compared by the Student *t*-test, analysis of variance (with Tuckey's post hoc test), or nonparametric statistics, as appropriate. For comparisons of metabolic, inflammatory and echocardiographic characteristics including both men and women, adjustment for gender was performed. Correlations between variables were assessed using a Pearson coefficient of correlation for normally distributed variables and Spearman coefficient of correlation when at least one of the variables in the analysis had a skewed distribution. Multiple linear regression was performed to evaluate the association of leptin with echocardiographic parameters after controlling for systolic blood pressure and gender. A *p* value < 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using SPSS version 18.0 for Windows.

Results

Demographic and clinical characteristics of heart failure patients and controls subjects

Fifty-five heart failure patients and 25 healthy controls were included in the present study. Demographic, anthropometric and metabolic parameters of heart failure patients and controls are shown in Table 1. The two groups were similar regarding age, weight, BMI and body fat percentage (all $p > 0.3$). The majority of heart failure patients were overweight with mean BMI of 26.6 ± 4.1 kg/m² and body fat percentage of 27.8 ± 6.2 %. Inflammatory markers, CRP and TNF- α were higher in heart failure patients compared to controls. Despite increased inflammatory markers, there was no difference in HOMA-IR and leptin levels between the groups.

Table 1 – Demographic, clinical and laboratory characteristics of heart failure patients and control subjects

	Heart failure patients (n = 55)	Control subjects (n = 25)	p
Gender (male)	42 (76%)	19 (76%)	1.000
Age (years)	56 ± 8	55 ± 8	0.521
Ethnicity (caucasian)	39 (71%)	20 (83%)	0.701
Smoking (yes)	16 (29%)	3 (13%)	0.012
Anthropometrics			
Weight (kg)	73.3 ± 13.2	75.9 ± 12.4	0.409
Body Mass Index (kg/m ²)	26.6 ± 4.1	26.0 ± 3.5	0.528
Fat mass (kg)	20.1 ± 5.8	19.2 ± 5.8	0.500
Lean mass (kg)	49.8 ± 9.6	51.2 ± 8.9	0.542
Fat-free mass (kg)	52.3 ± 9.8	53.4 ± 9.8	0.673
Bone mass (kg)	2.4 ± 0.6	2.6 ± 0.5	0.191
Abdominal body fat percentage (%)	27.8 ± 6.6	26.6 ± 6.7	0.470
Laboratory			
Leptin (ng/mL)	10.3 (5.9 – 16)	10.9 (7.6 – 15.9)	0.602
HOMA-IR	2.4 (1.8 – 4.1)	2.3 (1.51 – 4)	0.357
TNF- α (pg/mL)	4.7 (3.7 – 5.4)	1.2 (0.5 – 2.1)	<0.0001
C reactive protein (mg/dL)	2.4 (1.1 – 6.4)	1.2 (0.5 – 2.8)	0.013
Creatinine (mg/dL)	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.3	0.053

Continuous variables are presented as mean ± SD or median (interquartile range) and categorical variables as n (%).

Abbreviations: HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance.
TNF- α – tumor necrosis factor alpha.

The most prevalent etiologies of heart failure were ischemic heart disease (36%), idiopathic (29%), hypertensive (24%), and alcoholic (14%) (patients could have more than one etiology). Mean LV ejection fraction was 30 ± 8 %. Most patients were on New York Association Functional Class I (45.5%) or II (38.2%). Patients were under standard heart failure treatment: 91% on beta-blockers, 94.5% on angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) or angiotensin receptor blockers (ARB), 76% on diuretic, and 45.5% receiving spironolactone.

Body mass index and direct measures of body composition: gender-specific differences in heart failure patients

There was a direct, significant, yet weak correlation between BMI and body fat percentage (Figure 1A). In fact, we observed a differential pattern of association between BMI and body fat in women and men and further explored gender-specific differences in these parameters. Figures 1B and 1C illustrate that, despite similar BMI values between men and women (Fig 1B), women had significantly increased adiposity as assessed by both body fat percentage and abdominal body fat percentage, along with less lean mass (Figure 1C). Finally, we also observed higher leptin levels in women (Figure 1D).

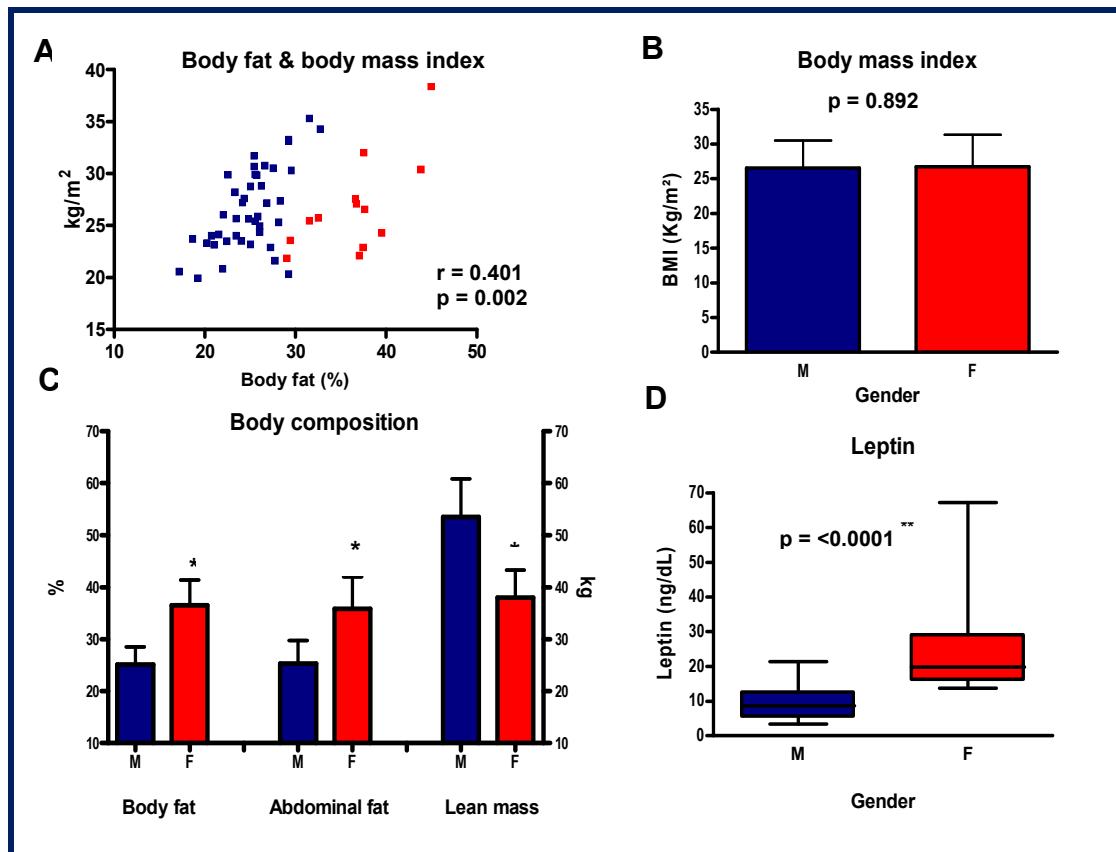


Figure 1. Body composition and leptin levels in heart failure patients, showing (A) correlation between BMI and body fat percentage (Pearson correlation); (B) mean BMI values in men and women; (C) body fat percentage, abdominal body fat percentage and lean body mass in men and women; (D) leptin levels in men and women. The blue columns indicate the male (M) and the red columns the female (F). * $p < 0.0001$ (Student t test for comparison between men and women), ** Mann Whitney test; error bars represent SD.

Assessment of heart failure patients according to abdominal body fat classification

Next, we categorized heart failure patients according to tertiles of abdominal body fat. The three groups were similar (Table 2), with no differences regarding age, heart failure etiology, functional class, medication use or laboratory evaluation. However, we observed significantly more women in the highest tertile of abdominal fat percentage while only men were found in the lowest tertile.

Table 2 – Demographic, clinical and laboratory characteristics of heart failure patients according to abdominal fat

	Abdominal fat			p
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	
Gender (male)	18 (100%)	18 (95%)	6 (33%) ^{**}	<0.0001
Age (years)	56.1 ± 5.3	56.9 ± 9	56.1 ± 8.9	0.929
Ethnicity (Caucasian)	12 (67%)	12 (63%)	15 (83%)	0.464
Smoking (yes)	7 (39%)	4 (21%)	5 (28%)	1.000
Hypertension	7 (39%)	8 (42%)	12 (67%)	0.099
Duration of illness (months)	40 (11 – 138)	41 (21 – 70)	59 (26 – 123)	0.279
Etiology				
Ischemic	3 (17%)	11 (58%)	6 (33%)	0.303
Idiopathic	9 (50%)	3 (16%)	4 (22%)	0.069
Hypertensive	3 (17%)	4 (21%)	6 (33%)	0.224
Alcoholic	4 (22%)	1 (5 %)	2 (11%)	0.411
NYHA class				0.831
I	9 (50%)	7 (37%)	9 (50%)	
II	7 (39%)	7 (37%)	7 (39%)	
III	1 (6%)	5 (26%)	2 (11%)	
IV	1 (6%)	-	-	
Heart rate (bpm)	79.6 ± 13.7	76.4 ± 25.6	73.2 ± 18.4	0.664
Systolic blood pressure (mmHg)	111.6 ± 17.6	112 ± 21.2	122.9 ± 17.9	0.166
Diastolic blood pressure (mmHg)	72.7 ± 11.4	74.7 ± 10.1	84.1 ± 11.7 *	0.013
Medications use				
β-Blockers	16 (89%)	16 (84%)	18 (100%)	0.251
ACEI/ARB	18 (100%)	16 (84%)	18 (100%)	1.000
Statins	7 (39%)	11 (58%)	11 (61%)	0.186
Furosemide	13 (72%)	15 (79%)	14 (78%)	0.697
Spirolactone	9 (50%)	5 (26%)	11 (61%)	0.507
Digoxin	16 (89%)	13 (68%)	9 (50%)	0.012
Laboratory				
Fasting glucose (mg/dL)	97.5 ± 9.8	98.9 ± 9	94.7 ± 8.2	0.370
Triglycerides (mg/dL)	124.3 ± 57.5	152.4 ± 118.8	162.8 ± 90.5	0.444
Total cholesterol (mg/dL)	201.5 ± 67.8	176.4 ± 41.7	186.8 ± 39.5	0.335
HDL cholesterol (mg/dL)	45.7 ± 17	43.7 ± 14.3	45.8 ± 10.9	0.887
LDL cholesterol (mg/dL)	131 ± 59.2	98.6 ± 29.7	108 ± 34	0.085
Creatinine (mg/dL)	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.4 *	1 ± 0.3 [#]	0.018
Uric acid (mg/dL)	8 ± 2	8.1 ± 2.1	6.3 ± 1.6 ^{**}	0.009
Hemoglobin (g/dL)	13.9 ± 1.4	13.7 ± 1.5	14 ± 1	0.836
Na (mEq/L)	140.8 ± 3.9	141.6 ± 1.8	141 ± 2.3	0.629

Continuous variables are presented as mean \pm SD and categorical variables as n (%).

Abbreviations: NYHA – New York Heart Association, ACEI – angiotensin converting enzyme inhibitors, ARB – angiotensin II-receptor blockers, HDL – fraction of high-density lipoprotein, LDL – fraction of low-density lipoprotein. * < 0.05 vs. tertile 1; # < 0.05 vs. tertile 2.

Table 3 depicts body composition, metabolic and inflammatory characteristics for the three abdominal body fat-classified groups, after gender adjustment. We observed a stepwise increase in leptin levels associated with increased abdominal fat tertiles. Increased insulin resistance as assessed by HOMA-IR values was only found in the highest tertile of abdominal body fat. Inflammatory markers were similar amongst the three abdominal fat-classified groups. Finally, we compared echocardiographic characteristics of abdominal fat-classified groups. Patients in the highest abdominal fat tertile had lower LVEDD/BSA, a trend to increased wall thickness, and increased RWT and M/V ratio. Left ventricular mass was similar amongst the groups.

Table 3 – Metabolic, inflammatory and echocardiographic characteristics of heart failure patients according to abdominal fat

	Abdominal fat			p
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	
Body mass index (kg/m ²)	24.7 ± 3.6	26.6 ± 3	28.4 ± 5*	0.019
Body fat percentage (%)	22.2 ± 2.4	26.3 ± 1.4	34.9 ± 5* [#]	<0.0001
Abdominal mass (kg)	7.4 ± 1.6	9.7 ± 2.1*	12.6 ± 3.8* [#]	<0.0001
Laboratory				
Leptin (ng/mL)	6.4 (3.8 – 9.5)	10.2 (7.9 – 13)	17.3 (15.9 – 22.8)* [#]	<0.0001
HOMA-IR	2.1 (1.4 – 2.8)	2.6 (1.8 – 4.7)	3.5 (1.9 – 5.2)*	0.058
TNF-α (pg/mL)	5 (3.9 – 6.8)	4.7 (4 – 5.2)	4.5 (2.2 – 5.2)	0.171
C reactive protein (mg/dL)	1.7 (1 – 8.3)	5 (1.9 – 7.5)	1.7 (0.8 – 4.3)	0.260
Echocardiographic parameters				
LV ejection fraction (%)	28 ± 9	30 ± 9	32 ± 7	0.325
LV end-diastolic diameter (cm)	7.2 ± 0.7	6.7 ± 0.9	6.2 ± 0.8*	0.003
LV end-diastolic diameter indexed for BSA (cm/m ²)	3.88 ± 0.41	3.74 ± 0.71	3.55 ± 0.58	0.249
LV end-systolic diameter (cm)	6.3 ± 0.8	5.7 ± 0.9	5.1 ± 0.7*	0.001
Diastolic volume indexed for BSA (mL/m ²)	150 ± 31	132 ± 45	113 ± 33*	0.019
Systolic volume indexed for BSA (mL/m ²)	112 ± 31	94 ± 37	75 ± 29*	0.008
Left atrium diameter (cm)	4.9 ± 0.9	5 ± 0.7	4.4 ± 1	0.124
Interventricular septum thickness (cm)	0.87 ± 0.16	0.93 ± 0.25	0.98 ± 0.2	0.284
Posterior wall thickness (cm)	0.86 ± 0.13	0.89 ± 0.15	0.95 ± 0.15	0.184
LV mass/BSA (m/g ²)	294 ± 66.5	284 ± 113.4	264 ± 89.8	0.619
LV mass/height ^{2.7} (g/m ^{2.7})	68.9 ± 17.02	72.73 ± 27.97	73.89 ± 24.7	0.807
LV mass/volume (g/mL)	1.1 ± 0.22	1.22 ± 0.35	1.35 ± 0.27*	0.052
Relative wall thickness (cm)	0.24 ± 0.04	0.27 ± 0.06	0.31 ± 0.05*	0.003

** Adjusted for gender; Continuous variables are presented as mean ± SD or median (interquartile range) and categorical variables as n (%).

Abbreviations: HOMA- IR – Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance, TNF-α – tumor necrosis factor alpha, LV – left ventricular; BSA – body surface area. * < 0.05 vs. tertile 1; # < 0.05 vs. tertile 2.

In order to better discriminate gender-specific associations of abdominal body fat and echocardiographic parameters, we assessed metabolic and inflammatory markers and echocardiographic parameters in men and women separately, despite the low numbers of the latter in our sample. The comparison between all men and women shows increased levels of leptin and decreased levels of CRP in women, with no significant differences in echocardiographic parameters (*data not shown*). When evaluating each gender separately, comparing groups with lower and higher than median values of abdominal fat percentage, we observed higher levels of leptin in both men and women in the higher abdominal fat groups (Table 4), and women presented higher absolute differences in leptin levels overall. All the differences in echocardiographic parameters were more pronounced and significant in women, while we observed lower nominal differences and only trends in men.

Table 4 – Body composition, metabolic, inflammatory and echocardiographic characteristics of men and women with heart failure according to median abdominal fat percentage

	Men			Women		
	Abdominal Fat %	Abdominal Fat %	p	Abdominal Fat %	Abdominal Fat %	p
	< median	> median		< median	> median	
Body mass index (kg/m ²)	25.1 ± 3.3	27.9 ± 4.1	0.018	24.6 ± 1.8	28.5 ± 5.6	0.135
Body fat percentage (%)	22.7 ± 2.5	27.5 ± 2.3	<0.0001	33.2 ± 4.2	39.3 ± 3.5	0.015
Fat mass (kg)	16.3 ± 3.1	21.8 ± 5.3	<0.0001	20.3 ± 4.2	26.2 ± 7.3	0.111
Abdominal fat mass (kg)	7.6 ± 1.6	11.4 ± 3	<0.0001	8.6 ± 1.7	13.2 ± 4.4	0.037
Abdominal fat (%)	21.9 ± 2.9	28.8 ± 2.7	<0.0001	31.2 ± 2.9	39.8 ± 5.3	0.005
Laboratory						
Leptin (ng/mL)	6.9 (4.1 – 9.7)	10.6 (8.1 – 15.4)	0.007	16 (15.3 – 17)	25 (21.3 – 41.3)	0.005
HOMA-IR	2.1 (1.7 – 2.8)	3.4 (1.7 – 4.6)	0.242	3.1 (2.4 – 3.6)	3.4 (1.7 – 6.1)	1.000
TNF-α (pg/mL)	4.6 (3.9 – 5.4)	4.9 (4.3 – 5.3)	0.615	2.1 (1.1 – 3.2)	4.3 (2 – 5)	0.366
C reactive protein (mg/dL)	1.8 (1 – 8.3)	5.1 (1.7 – 7.4)	0.397	2.2 (1.1 – 5.2)	1.2 (0.6 – 2.3)	0.181
Echocardiographic parameters						
LV ejection fraction (%)	29.5 ± 9.3	28.9 ± 8.1	0.819	30.7 ± 4.4	35.3 ± 6.5	0.168
LV end-diastolic diameter (cm)	7.1 ± 0.7	6.7 ± 1	0.157	6.6 ± 0.7	5.7 ± 0.5	0.022
LV end-diastolic diameter indexed for BSA (cm/m ²)	3.8 ± 0.4	3.6 ± 0.7	0.221	4.1 ± 0.6	3.5 ± 0.4	0.044
LV end-systolic diameter (cm)	6.1 ± 0.8	5.6 ± 0.9	0.110	5.6 ± 0.8	4.6 ± 0.5	0.037

Diastolic volume indexed for BSA (mL/m ²)	144.9 ± 31.7	126.6 ± 46.3	0.148	141.2 ± 34.9	97.7 ± 18.9	0.023
Systolic volume indexed for BSA (mL/m ²)	105.9 ± 32.6	88.5 ± 37.9	0.123	97.4 ± 35.1	65.4 ± 21.8	0.111
Left atrium diameter (cm)	4.9 ± 0.9	5 ± 0.9	0.698	5 ± 0.6	3.8 ± 0.6	0.004
Interventricular septum thickness (cm)	0.86 ± 0.1	0.96 ± 0.2	0.305	0.95 ± 0.2	1.02 ± 0.2	0.362
Posterior wall thickness (cm)	0.86 ± 0.1	0.93 ± 0.2	0.176	0.85 ± 0.1	0.97 ± 0.2	0.235
LV mass/BSA (g/m ²)	286.7 ± 64.2	290.5 ± 118.5	0.898	270.3 ± 80.9	241.6 ± 83.6	0.543
LV mass/height ^{2.7} (g/m ^{2.7})	68.1 ± 16.4	71.9 ± 28.1	0.591	79.8 ± 26.1	76.3 ± 26.8	0.814
LV mass/volume (g/mL)	1.09 ± 0.2	1.28 ± 0.3	0.101	1.18 ± 0.2	1.46 ± 0.3	0.065
Relative wall thickness (cm)	0.24 ± 0.05	0.28 ± 0.06	0.051	0.26 ± 0.03	0.34 ± 0.06	0.023

Continuous variables are presented as mean ± SD or median (interquartile range) and categorical variables as n (%).

Abbreviations: HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance; TNF-α – tumor necrosis factor alpha; LV – left ventricular; BSA – body surface area.

Association of leptin with body composition, metabolic and inflammatory profile, and with echocardiographic parameters

Leptin levels correlated to BMI (Figure 2A), body fat percentage (Figure 2B) and abdominal body fat (Figure 2C). However, this correlation was notably stronger for body fat percentage and abdominal fat than for BMI. No correlation was observed between leptin and lean mass (Figure 2D).

Leptin levels were inversely correlated with LVEDD/BSA (Figure 3A) and directly correlated with PWT (Figure 3B). There was a moderate correlation with M/V ratio and RWT (Figures 3C and D). No significant association was found between leptin and LVEF or LVmass/Ht^{2.7} (not shown, $p = 0.165$ and $p = 0.292$, respectively). Additionally, logleptin remained associated to each of the above mentioned echocardiographic parameters after adjustment for gender and systolic blood pressure (Table 5).

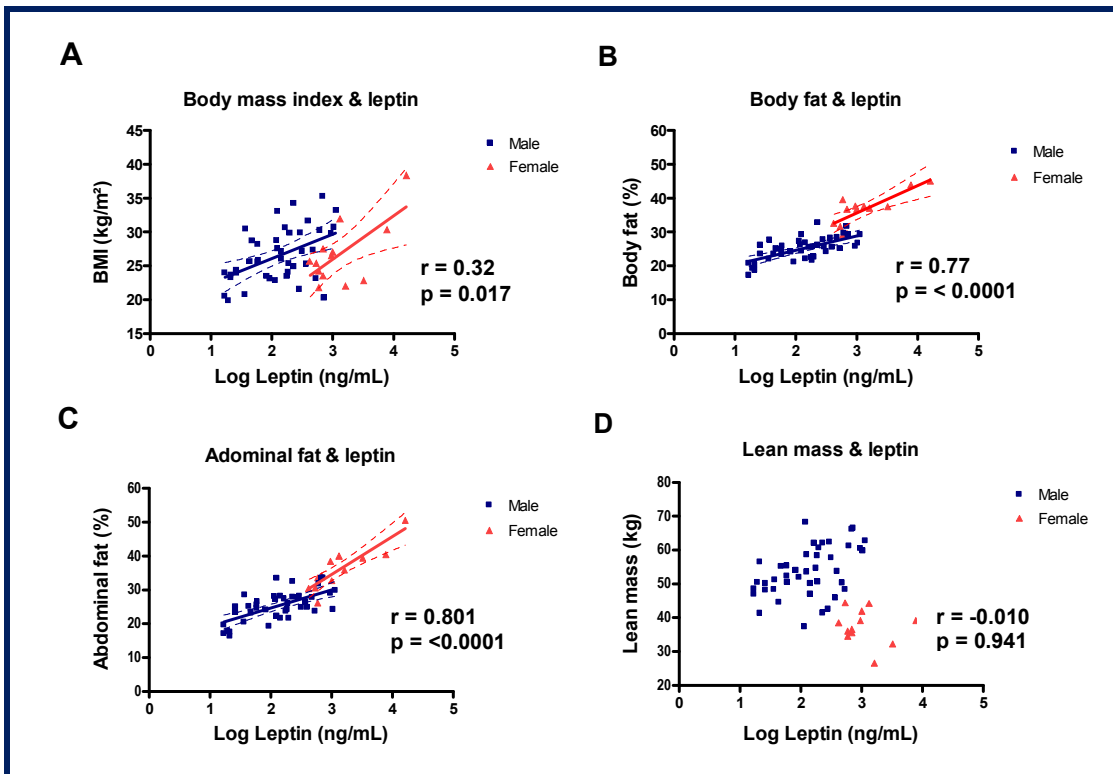


Figure 2. Correlation of leptin and components of composition body in patients with heart failure. Correlation between leptin levels and BMI (A), body fat percentage (B), abdominal body fat percentage (C) and lean body mass (D).

A: male, $r = 0.452$, $p = 0.003$; female, $r = 0.386$, $p = 0.193$; B: male, $r = 0.633$, $p = <0.0001$; female, $r = 0.680$, $p = 0.010$; C: male, $r = 0.596$, $p = <0.0001$; female, $r = 0.884$, $p = <0.0001$; D: male, $r = 0.459$, $p = 0.002$; female, $r = 0.088$, $p = 0.775$.

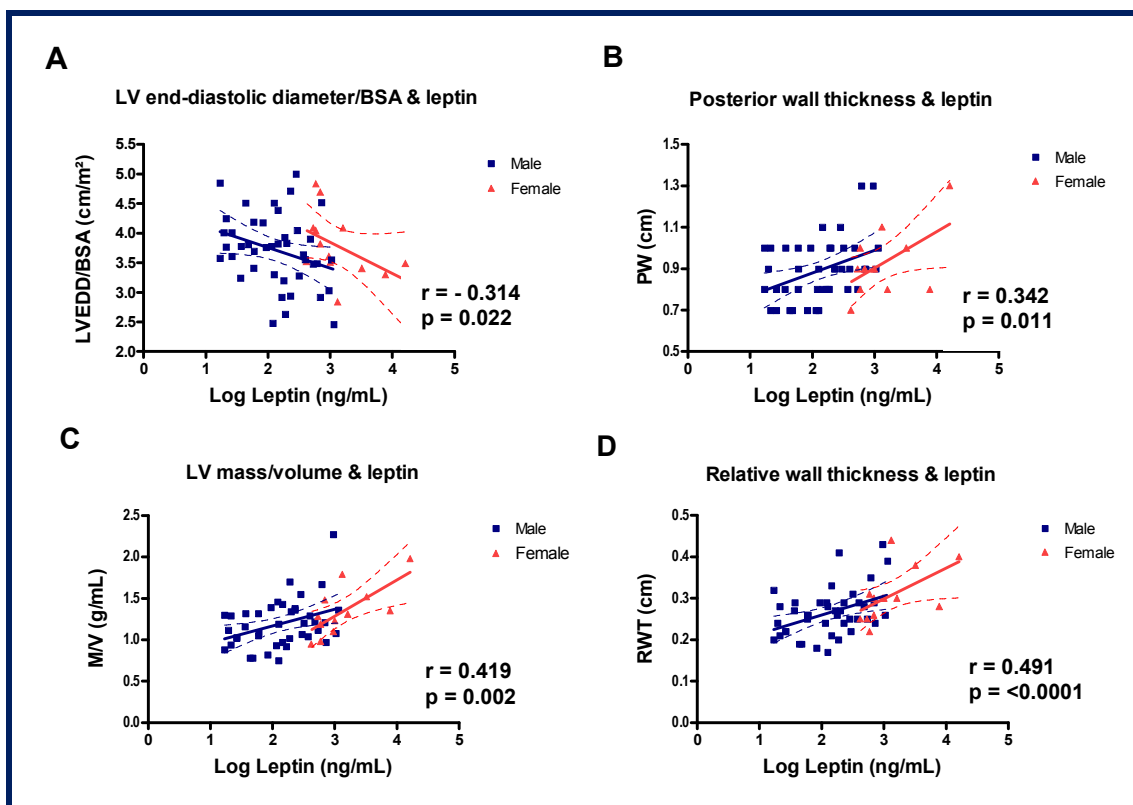


Figure 3. Correlation between leptin levels and echocardiographic parameters in heart failure patients: (A) LV end-diastolic diameter/BSA, (B) posterior wall thickness, (C) LV mass/volume and (D) relative wall thickness. A: male, $r = -0.301$, $p = 0.053$; female, $r = -0.612$, $p = 0.026$; B: male, $r = 0.376$, $p = 0.014$; female, $r = 0.375$, $p = 0.206$; C: male, $r = 0.339$, $p = 0.030$; female, $r = 0.757$, $p = 0.004$; D: male, $r = 0.364$, $p = 0.018$; female, $r = 0.619$, $p = 0.024$.

Abbreviations: LV – left ventricular; BSA – body surface area

Table 5 – Determinants of echocardiographic parameters by multivariate analysis

Covariate	β	95%CI	p	R²
LVEDD/BSA				0.161
Log leptin	-0.467	(-0.74 to -0.110)	0.009	
Systolic blood pressure	0.217	(-0.002 to 0.015)	0.134	
Gender	0.365	(0.046 to 0.997)	0.032	
Posterior wall thickness				0.259
Log leptin	0.542	(0.049 to 0.196)	0.002	
Systolic blood pressure	0.164	(-0.001 to 0.003)	0.227	
Gender	-0.303	(-0.218 to 0.004)	0.057	
Relative wall thickness				0.280
Log leptin	0.583	(0.024 to 0.082)	0.001	
Systolic blood pressure	0.044	(-0.001 to 0.001)	0.741	
Gender	-0.141	(-0.063 to 0.024)	0.363	
LV mass/volume				0.279
Log leptin	0.480	(0.071 to 0.362)	0.005	
Systolic blood pressure	0.237	(0.0001 to 0.008)	0.081	
Gender	-0.180	(-0.356 to 0.095)	0.250	

Multivariate linear regression analyses using LVEDD/BSA, PWT, RWT or M/V as dependent variables, and including log leptin, systolic blood pressure and gender as independent variables.

Abbreviations: LV – left ventricular; LVEDD/BSA – LV end-diastolic diameter indexed for body surface area.

Discussion

The major finding of our study is that leptin levels were predominantly associated with general and central adiposity compared to BMI and independently associated to wall thickening and LV diameter across the spectrum of LV hypertrophy in the context of heart failure due to systolic dysfunction. Taken together our observations suggest that leptin might be unraveling interactions between adiposity and cardiac structural changes in systolic heart failure.

Clinical and metabolic characteristics of patients

Most studies devoted to investigate body composition, nutritional status and heart failure have focused on advanced stages of the disease whereby cachexia becomes prominent^{21,22}. Differently, in this study we focused on patients with less severe disease and dissected differential aspects, both phenotypic and of cardiac structure relative to markers/effectors associated with adiposity, i.e leptin, inflammatory activity and insulin resistance. We observed subtle changes in all markers comparing our heart failure patients to control subjects, which is in accordance with the mild heart failure status of patients²³, but we were able stratify the pattern of leptin levels according to different body fat *strata*, in particular abdominal fat. Also, in the present study we showed that HOMA-IR, an indicator of insulin resistance, was similar between heart failure patients and healthy controls, as well as we observed only moderately elevated levels of TNF- α indicating that in stable outpatients, this only mildly activated inflammatory *milieu* was unlikely to trigger marked

immuno-inflammatory and metabolic changes, including excessively elevated leptin levels.

Gender-specific comparison between BMI and abdominal fat

Obesity is paradoxically associated to heart failure. On one hand, the incidence of heart failure is increased in obese individuals¹; on the other hand, once heart failure is established in obese patients, it features better prognosis compared to non-obese heart failure patients^{2,3}. Perhaps the missing link to combine these observations lies on the fact that the assessment of obesity exclusively based on BMI may be misleading regarding important individual components of body composition, which might be causing differential cardiovascular effects^{6,24}. Indeed, BMI and body fat percentage assess different components in body composition; BMI does not discriminate between lean mass and body fat^{5,6}. However, the clinical impact of this differentiation is not clear⁶. A previous study of patients with systolic and/or diastolic heart failure suggested that BMI may not be a good indicator for adiposity in those patients, instead, direct measures of body composition were associated to prognostic factors in heart failure²⁴. In the present study, we in fact showed that BMI had a weak correlation with body fat distribution along with important gender-specific differences: women had marked increase in abdominal fat, which in turn correlated strongly with increased leptin levels. Our study approaches the question on how to best characterize obesity, at least in the context of heart failure, and underlies that this definition may be relevant to understand the development of structural cardiac changes seen in heart failure. This may be important because different markers/effectors differentially

associated to specific elements of adiposity may be important to the development of distinct patterns of cardiac structural changes in heart failure^{12,25}.

It is known that obesity and increased adiposity are associated with cardiac abnormalities including concentric ventricular remodeling or hypertrophy²⁶. However, the mechanistic link between increased adiposity and LV morphology is controversial and not completely understood. Furthermore, during progression of heart failure, a series of processes occur resulting in predominantly eccentric remodeling or hypertrophy. Therefore, our study evaluated the role of increased adiposity and leptin in this scenario; our data suggested that increased central adiposity is associated with reduced dilation and increased wall thickness, pointing towards a less eccentric remodeling.

Adiposity-related leptin, heart failure and LV remodeling

Either hemodynamic (increased load) and/or neurohumoral factors are thought to contribute to cardiac structural changes seen in obese individuals²⁷. A clear association between obesity and heart failure exists, and it is thought that leptin, the product of the obese gene, have cardiovascular effects^{12,28}. Indeed, data on the role of leptin inducing changes in cardiac structure are controversial. Experimental studies showed that knock out models for the leptin gene or its receptor caused anti-hypertrophic effects in obese mice²⁹. Others have shown that leptin infusion caused elongation of myocytes, determining eccentric remodeling in mice post-acute myocardial infarction³⁰. In patients with hypertension, an association between leptin and LV hypertrophy has been described¹⁶. Nonetheless, the profile of circulating levels of leptin in

patients with heart failure and obesity and its association with cardiac structural changes remains unexplored. In our study, leptin levels were similar comparing heart failure patients and healthy controls. However, leptin levels were different amongst heart failure patients according to abdominal fat, which were more evident in women that, in turn, had increased central obesity compared to men. We also observed an association between leptin levels and several echocardiographic parameters such as, LVEDD, PWT, M/V, and RWT. Interestingly, no association was seen with LV mass. The combination of above findings might suggest that, in patients with heart failure and LV remodeling - where hypertrophy is universally present - the impact of increased adiposity and resulting leptin is not measured by the magnitude of hypertrophy but rather by the pattern of structural LV changes. These findings, if confirmed in larger prospective studies, might contribute to the understanding of the so-called obesity paradox in heart failure patients, in which a protective cardiac phenotype may underlie the lower mortality rates seen in patients with heart failure when higher BMI values are noted^{2,3,4}. Taken together, our findings suggest that leptin can be a surrogate for an adiposity phenotype influencing cardiac remodeling in the clinical scenario of systolic heart failure.

Limitations

Our data should be viewed under some limitations. First, our sample size was relatively small, and additional prospective studies of a larger population are necessary. Second, most patients in this study were male, thus even though we found stronger correlations between central adiposity and women, larger

female sample size would be desirable to consolidate these observations. Also, we studied mostly mild heart failure (NYHA functional class I or II) patients; this in part may explain the fact that we did not observe markedly elevated levels of different biomarkers, which may justify the lack of expected associations involving leptin and TNF- α , for example.

Conclusions

In conclusion, in the present study we showed that increased leptin levels, reflecting increased abdominal fat, were independently associated with higher wall thickness and lower LV diameter in patients with heart failure due to systolic dysfunction. Interestingly, women had increased adiposity and higher leptin levels, in parallel with accentuated effects of increased abdominal fat and leptin in echocardiographic parameters. We also showed a weak correlation between BMI and body fat, suggesting that direct evaluation of body composition and determination of abdominal fat percentage may help to reveal the complex interplay between obesity, heart failure and cardiac remodeling, shedding light into the yet unsolved so-called obesity paradox in heart failure.

References

1. Kenchaiah S, Evans J, Levy D, Wilson PWF, Benjamin EJ, Larson MG, Kannel WB, Vasan RS. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347:305-313.
2. Curtis JP, Selter JG, Wang Y, Rathore SS, Jovin IS, Jadbabaie F, Kosiborod M, Portnay EL, Sokol SI, Bader F, Krumholz HM. The obesity paradox: body mass index and outcomes in patients with heart failure. *Arch Intern Med* 2005; 165:55–61.
3. Kenchaiah S, Pocock SJ, Wang D, Finn PV, Zornoff LAM, Skali H, Pfeffer MA, Yusuf S, Swedberg K, Michelson EL, Granger CB, McMurray JJV, Solomon SD. Body mass index and prognosis in patients with chronic heart failure: insights from the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program. *Circulation* 2007; 116:627–636.
4. Oreopoulos A, Padwal R, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, McAlister FA. Body mass index and mortality in heart failure: a meta-analysis. *Am Heart J* 2008; 156:13–22.
5. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, Allisin TG, Batáís JA, Kuniyoshi FH, Lopez-Jimenez F. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32:959-966.
6. Taylor AE, Ebrahim S, Ben-Shlomo Y, Martin RM, Whincup PH, Yarnell JW, Wannamethee SG, Lawlor DA. Comparison of the associations of body mass index and measures of central adiposity and fat mass with

- coronary heart disease, diabetes, and all-cause mortality: a study using data from 4 UK cohorts. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:547–556.
7. Canoy D, Boekholdt SM, Wareham N, Luben R, Welch A, Bingham S, Buchan I, Day N, Khaw KT. Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition in Norfolk cohort: a population-based prospective study. *Circulation* 2007; 116:2933–2943.
 8. Canoy D. Distribution of body fat and risk of coronary heart disease in men and women. *Curr Opin Cardiol*. 2008 Nov; 23(6):591-8.
 9. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316:129–139.
 10. Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. Adipocytokines: leptin - the classical, resistin - the controversial, adiponectin - the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19:525–546.
 11. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395:763–770.
 12. Sweeney G. Cardiovascular effects of leptin. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7:22–29.
 13. Madani S, De Girolamo S, Munoz DM, Li RK, Sweeney G. Direct effects of leptin on size and extracellular matrix components of human pediatric ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 2006; 69:716–725.
 14. Rajapurohitam V, Gan XT, Kirshenbaum LA, Karmazyn M. The obesity-associated peptide leptin induces hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. *Circ Res* 2003; 93:277–279.

15. Xu FP, Chen MS, Wang YZ, Yi Q, Lin SB, Chen AF, Luo JD. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation* 2004; 110:1269–1275.
16. Paolisso G, Tagliamonte MR, Galderisi M, Zito GA, Petrocelli A, Carella C, de Divitiis O, Varricchio M. Plasma Leptin Level Is Associated With Myocardial Wall Thickness in Hypertensive Insulin-Resistant Men. *Hypertension* 1999; 34:1047–1052.
17. Gaasch WH, Delorey DE, St John Sutton MG, Zile MR. Patterns of structural and functional remodeling of the left ventricle in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2008; 102:459–462.
18. Rohde LE, Silva Neto LB, Goldraich L, Grazziotin TC, Palombini DV, Polanczyk CA, Clausell N. Reliability and prognostic value of traditional signs and symptoms in outpatients with congestive heart failure. *Can J Cardiol* 2004; 20:697–702.
19. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf EA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for Chamber Quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and the Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1440–1463.

20. Foppa M, Duncan BB, Rohde LE. Echocardiography-based LV mass estimation. How should we define hypertrophy? *Cardiovasc Ultrasound* 2005; 17:3-17.
21. McEntegart MB, Awede B, Petrie MC, Sattar N, Dunn FG, MacFarlane NG, McMurray JJ. Increase in serum adiponectin concentration in patients with heart failure and cachexia: relationship with leptin, other cytokines, and B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J* 2007; 28(7):829-35.
22. Schulze PC, Kratzsch J, Linke A, Schoene N, Adams V, Gielen S, Erbs S, Moebius-Winkler S, Schuler G. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2003; 5: 33–40.
23. Windram JD, Loh PH, Rigby AS, Hanning I, Clark AL, Cleland JG. Relationship of high-sensitivity C-reactive protein to prognosis and other prognostic markers in outpatients with heart failure. *Am Heart J* 2007; 153(6):1048-55.
24. Oreopoulos A, Ezekowitz JA, McAlister FA, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, Johnson JA, Padwal RS. Association between direct measures of body composition and prognostic factors in chronic heart failure. *Mayo Clin Proc* 2010; 85(7):609-17.
25. Schram K, Sweeney G. Implications of Myocardial Matrix Remodeling by Adipokines in Obesity-Related Heart Failure. *Trends Cardiovasc Med* 2008; 18(6):199-205.
26. Turkbey EB, McClelland RL, Kronmal RA, Burke GL, Bild DE, Tracy RP, Arai AE, Lima JA, Bluemke DA. The impact of obesity on the left

- ventricle: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol Img* 2010; 3(3):266-74.
27. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev* 2008; 88: 389–419.
28. Schulze PC, Kratzsch J. Leptin as a new diagnostic tool in chronic heart failure. *Clin Chim Acta* 2005; 362: 1–11.
29. Barouch LA, Berkowitz DE, Harrison RW, O'Donnell CP, Hare JM. Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice. *Circulation* 2003; 108: 754–759.
30. Abe Y, Ono K, Kawamura T, Wada H, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Leptin induces elongation of cardiac myocytes and causes eccentric left ventricular dilatation with compensation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(5):H2387-96.

APÊNDICES

Apêndice 1A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto: Adipocinas, resistência insulínica e marcadores inflamatórios em pacientes ambulatoriais com insuficiência cardíaca e a relação com excesso de peso.

O(a) sr(a). está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa científica que tem por objetivo avaliar os níveis de algumas substâncias no seu organismo e a sua composição corporal. Essas substâncias podem estar envolvidas no desenvolvimento e na progressão de doenças cardíacas, como a insuficiência cardíaca. Para entendermos melhor esses mecanismos, precisamos coletar alguns dados importantes; através de exames laboratoriais, de avaliação antropométrica (medida de peso, altura e pregas cutâneas), bioimpedância e DEXA (composição corporal), calorimetria indireta (taxa de metabolismo basal), teste cardiopulmonar e por fim, um recordatório alimentar para estimar seu consumo diário de alimentos.

Ao aceitar participar da pesquisa, o(a) sr(a). responderá algumas questões importantes para a sua inclusão no estudo. Você retornará ao hospital uma única vez em no máximo 15 dias. Neste dia você deverá trazer a urina coletada em 24h e estar em jejum de 12h para a realização dos exames. Primeiro será realizada uma coleta de sangue, onde serão coletados 10 mL de sangue para exames laboratoriais. O(a) sr(a) poderá sentir um desconforto, e, além disso, hematomas (manchas roxas) poderão ocorrer no local da coleta. Em um segundo momento será realizado o teste de calorimetria indireta, sendo necessário permanecer de 30 minutos a 1 hora deitado ou numa posição semi-reclinada, em ambiente termoneutro. Nesse teste o paciente respira normalmente através de uma máscara ventilatória na qual os gases expirados são coletados. Após será feito um exame (bioimpedância) que avalia a composição corporal e a quantidade de líquido corporal. O paciente permanece deitado por mais 10 minutos para a colocação dos eletrodos, em cima do pé e da mão, para obter o resultado do teste. Após essa etapa inicial, o(a) sr(a) receberá um lanche e o entrevistador fará um levantamento de tudo que o(a) sr(a). comeu nas últimas 24h, pois dessa maneira podemos conhecer melhor sua alimentação. Outro teste para avaliar a composição corporal será realizado no setor de radiologia do hospital. Nesse exame você ficará deitado com as pernas e os braços estendidos ao longo do corpo até a medição da massa gorda, massa magra e massa óssea corporal. Por fim, o paciente deverá pedalar em uma bicicleta ergométrica onde sua capacidade física será avaliada através de teste cardiopulmonar. Você será monitorado através de eletrocardiograma e um dos médicos

da equipe de insuficiência cardíaca do hospital estará acompanhando a realização do mesmo.

Você deverá permanecer no hospital até que todas essas avaliações acabem, ou seja, no máximo 3 – 4h. Além disso, acompanhamento telefônico será realizado nos próximos 24 meses. Todas as informações serão sigilosas e codificadas com um número, os quais só os pesquisadores terão acesso. Em nenhum momento seu nome ou qualquer informação sobre a sua saúde será fornecida para qualquer outra pessoa que não seja um dos pesquisadores. As informações serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

O (A) sr(a) tem direito de recusar-se a participar deste estudo e sua decisão não influenciará em nada no seu atendimento no Hospital de Clínicas. Além disso, para participar dessa pesquisa, não será necessário receber nenhum tipo de medicação e não haverá despesas pessoais, incluindo exames e consultas. O(a) sr(a). será ressarcido com gastos de passagens e não haverá compensação financeira relacionada a sua participação.

Pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu _____ declaro que autorizo minha participação neste projeto de pesquisa. Fui informado, de forma clara e detalhado, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, sobre os objetivos desse estudo.

Pesquisadores responsáveis por este projeto de pesquisa: Professora Nadine Clausell, Dr^a Andreia Biolo e a Nutricionista Gabriela Souza, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição.

Telefones dos pesquisadores: (51) 21018843 e (51) 99720753.

Paciente ou responsável

Pesquisador

Porto Alegre, ____ de _____ de _____.

Apêndice 1B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Grupo Controle

Projeto: Adipocinas, resistência insulínica e marcadores inflamatórios em pacientes ambulatoriais com insuficiência cardíaca e a relação com excesso de peso.

O(a) sr(a). está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa científica que tem por objetivo avaliar os níveis de algumas substâncias no seu organismo e a sua composição corporal. Essas substâncias podem estar envolvidas no desenvolvimento e na progressão de doenças cardíacas, como a insuficiência cardíaca. Para entendermos melhor esses mecanismos, precisamos coletar alguns dados importantes; através de exames laboratoriais, de avaliação antropométrica (medida de peso, altura e pregas cutâneas), bioimpedância e DEXA (composição corporal), calorimetria indireta (taxa de metabolismo basal), teste cardiopulmonar e por fim, um recordatório alimentar para estimar o consumo diário de alimentos.

Ao aceitar participar da pesquisa, o(a) sr(a). responderá algumas questões importantes para a sua inclusão no estudo. Você virá ao hospital uma única vez em no máximo 15 dias. Neste dia você deverá trazer a urina coletada em 24h e estar em jejum de 12h para a realização dos exames. Primeiro será realizada uma coleta de sangue, onde serão coletados 10 mL de sangue para exames laboratoriais. O(a) sr(a) poderá sentir um desconforto, e, além disso, hematomas (manchas roxas) poderão ocorrer no local da coleta. Em um segundo momento será realizado o teste de calorimetria indireta, sendo necessário permanecer de 30 minutos a 1 hora deitado ou numa posição semi-reclinada, em ambiente termoneutro. Nesse teste você vai respirar normalmente através de uma máscara ventilatória na qual os gases expirados são coletados. Após será feito um exame (bioimpedância) que avalia a composição corporal e a quantidade de líquido corporal. Você irá permanecer deitado por mais 10 minutos para a colocação dos eletrodos, em cima do pé e da mão, para obter o resultado do teste. Após essa etapa inicial, o(a) sr(a) receberá um lanche e o entrevistador fará um levantamento de tudo que o(a) sr(a). comeu nas últimas 24h, pois dessa maneira podemos conhecer melhor sua alimentação. Outro teste para avaliar a composição corporal será realizado no setor de radiologia do hospital. Nesse exame você ficará deitado com as pernas e os braços estendidos ao longo do corpo até a medição da massa gorda, massa magra e massa óssea corporal. Por fim, o(a) sr(a) deverá pedalar em uma bicicleta ergométrica onde sua capacidade física será avaliada através de teste cardiopulmonar. Você será monitorado através de eletrocardiograma e um dos médicos da equipe de insuficiência cardíaca do hospital estará acompanhando a realização do mesmo.

Você deverá permanecer no hospital até que todas essas avaliações acabem, ou

seja, no máximo 3 – 4h. Todas as informações serão sigilosas e codificadas com um número, os quais só os pesquisadores terão acesso. Em nenhum momento seu nome ou qualquer informação sobre a sua saúde será fornecida para qualquer outra pessoa que não seja um dos pesquisadores. As informações serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

O (a) sr(a) tem direito de recusar-se a participar deste estudo e sua decisão não influenciará em nada no seu atendimento no Hospital de Clínicas. Além disso, para participar dessa pesquisa, não será necessário receber nenhum tipo de medicação e não haverá despesas pessoais, incluindo exames e consultas. O(a) sr(a). será ressarcido com gastos de passagens e não haverá compensação financeira relacionada a sua participação.

Pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu _____ declaro que autorizo minha participação neste projeto de pesquisa. Fui informado, de forma clara e detalhado, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, sobre os objetivos desse estudo.

Pesquisadores responsáveis por este projeto de pesquisa: Professora Nadine Clausell, Dr^a Andreia Biolo e a Nutricionista Gabriela Souza, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição.

Telefones dos pesquisadores: (51) 21018843 e (51) 99720753.

Paciente ou responsável

Pesquisador

Porto Alegre, ____ de _____ de _____.

Apêndice 2
Orientações para coleta de urina 24 horas

Nome: _____ N° registro: _____

COMO COLHER A URINA DE 24 HORAS

No dia anterior à consulta:

1. Jogar fora a primeira urina da manhã. Anotar o horário que jogou fora.
2. Juntar em um frasco grande (pode ser de refrigerante) todas as outras urinas até primeira urina da manhã do dia da consulta.
3. Anotar o horário da última urina coletada (primeira urina da manhã do dia da consulta)

HORÁRIO DA URINA JOGADA FORA: _____

HORÁRIO DA ÚLTIMA URINA COLHIDA: _____

Obs.: O frasco não precisa ser esterilizado, basta lavar bem com detergente e enxaguar bastante. Use quanto frascos forem necessários, pois o importante é que toda a urina seja colhida. Não urine durante o banho; se tiver vontade de urinar é preciso colher a urina.

Apêndice 3

Ficha de coleta de dados

Adipocinas, resistência insulínica e marcadores inflamatórios em pacientes ambulatoriais com insuficiência cardíaca e a relação com excesso de peso.

Código do paciente:

Data de entrada no estudo: ____/____/____

GRUPO: Contole IC

Eutrófico Sobrepeso Obesidade

1. Identificação

Nome: _____

Iniciais do pcte: _____ Prontuário: _____ Sexo: M F

Tel. residencial: _____ Tel. celular: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Idade: _____ Cor: branca preta mista

Estado Civil: solteiro casado separado/divorciado viúvo

Anos de estudo: _____ Profissão: _____

Tabagismo sim não prévio Cigarros/dia _____

Nº de anos _____ Maços/ano _____

Uso abusivo de bebidas de álcool: sim não prévio

Nº de doses diárias _____ Frequência semanal _____

Tipo de dose garrafa lata copo dose (medidor) taça missing

Tipo de bebida cerveja, chope vinho destilado (cachaça,vodka) missing

Nº de anos _____

2. Etiologia provável da IC:

- | | | |
|--|---------------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Isquêmica | <input type="checkbox"/> Hipertensiva | <input type="checkbox"/> Idiopática |
| <input type="checkbox"/> Chagas | <input type="checkbox"/> Alcoólica | <input type="checkbox"/> Miocardite |
| <input type="checkbox"/> Valvular: (Est Ao) (Est Mitr) (Ins Mitr) (Ins Ao) | Outra _____ | |

3. Medicações em uso

- | B-bloqueador | IECA | ARA II | Estatina |
|--|--|--------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Metoprolol succinato | <input type="checkbox"/> Enalapril | <input type="checkbox"/> Losartan | <input type="checkbox"/> Sinvastatina |
| <input type="checkbox"/> Metoprolol tartarato | <input type="checkbox"/> Captopril | <input type="checkbox"/> Candesartan | <input type="checkbox"/> Pravastatina |
| <input type="checkbox"/> Carvedilol | <input type="checkbox"/> Lisinopril | <input type="checkbox"/> Valsatran | <input type="checkbox"/> Atorvastatina |
| <input type="checkbox"/> Bisoprolol | <input type="checkbox"/> Ramipril | <input type="checkbox"/> Telmisartan | <input type="checkbox"/> Lovastatina |
| <input type="checkbox"/> Propanolol | dose _____ | dose _____ | dose _____ |
| <input type="checkbox"/> Atenolol | <input type="checkbox"/> Não usa – pq? | <input type="checkbox"/> Não usa | <input type="checkbox"/> Não usa |
| dose _____ | <input type="checkbox"/> tosse | | |
| <input type="checkbox"/> Não usa – pq? | <input type="checkbox"/> aumento de Cr ou K | | |
| <input type="checkbox"/> contra-indicação | <input type="checkbox"/> hipotensão | | |
| <input type="checkbox"/> sem indicação | <input type="checkbox"/> alergia/angioedema | | |
| <input type="checkbox"/> intolerância | <input type="checkbox"/> dificuldade financeira ou má adesão | | |
| <input type="checkbox"/> dificuldade financeira ou má-adesão | | | |

– Diuréticos –

- | Tiazídicos | De alça | Poupadores de K |
|--|-------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Hidroclorotiazida | <input type="checkbox"/> Furosemida | <input type="checkbox"/> Espironolactona |
| <input type="checkbox"/> Clortalidona | <input type="checkbox"/> Bumetanida | <input type="checkbox"/> Não usa |
| <input type="checkbox"/> Indapamida | <input type="checkbox"/> Não usa | dose _____ |
| <input type="checkbox"/> Não usa | dose _____ | |
| dose _____ | | |

Bloq. canal de Ca

- amlodipina
 diltiazem
 nifedipina
 verapamil
 Não usa

dose _____

Vasodilatadores

- Hidralazina
 Isordil
 Não usa
dose _____

Antiplaquetários

- AAS S N dose _____
Clopidogrel S N dose _____
Ticlopidina S N dose _____

Bloq. Canal de K Amiodarona S N dose _____

Didigitálicos Digoxina S N dose _____

Anticoagulantes Varfarina S N dose _____

Fenprocumon S N dose _____

Outros:

4. Parâmetros antropométricos

Peso atual (Kg)	
Altura (m)	
IMC (kg/m ²)	
CA (cm)	
CB (cm)	

5. Bioimpedância

	Leitura	Valores recomendados		Leitura	Valores recomendados
Gordura Corporal(%)			Água (%)		
Peso Massa Gorda (kg)			Água Corporal Total (L)		
Massa Muscular (%)			TMB (Kcal/dia)		
Peso Massa Muscular (kg)			Energia Estimada (kcal)		
Peso Corporal Total (kg)			IMC (kg/m ²)		
			Impedância		

6. DEXA

Gordura corporal (%)		Massa Magra (kg)	
Peso Massa Gorda (kg)		Massa livre de gordura (kg)	
Massa Gordura Abdominal (kg)		Massa Óssea (kg)	
Gordura corporal abdominal (%)			

7. Ecocardiografia

		Valores recomendados			Valores recomendados
AE (cm)			PSAP (mmHg)		
VE diástole			Fração de ejeção (%)		
VE sístole (cm)			VEDD		
Septo (cm)			Ins Mitral		
Parede			Ins Tricuspid		
VEDS					
Massa VE					

IM: sem alteração mínima leve moderada grave

IT: sem alteração mínima leve moderada grave

8. Bioquímica

Hematócrito (%)		Potássio (mEq/L)		Leptina (ng/mL)	
Hemoglobina (g/dL)		Sódio (mEq/L)		Adiponectina (µg/mL)	
VCM (fL)		Glicose (mg/dL)		TNF-α (pg/ml)	
Linfócitos (%)		CT (mg/dL)		PCR (mg/L)	
Plaquetas		HDL (mg/dL)		Insulina	
Albumina (g/dL)		LDL (mg/dL)		HOMA	
Creatinina (mg/dL)		TG (mg/dL)			
Uréia sangue (mg/dL)		Uréia urinária (g/24h)			
Ácido Úrico (mg/dL)		Na urinário (mEq/24h)			

9. Calorimetria Indireta

VO ₂ /Kg (ml/min/kg)		Lípidos (g/dia)	
VCO ₂ (ml/min)		Proteínas (g/dia)	
BF		TMR (Kcal/dia)	
EE		RER	
Carboidratos (g/dia)			

10. Ergoespirometria

VO ₂ /Kg (ml/min/kg)		VECO ₂ slop	
VCO ₂ (ml/min)		Ventper	
VE/VCO ₂		FC repouso	
VE (L/min)		FC pico	
VO ₂ pico		PAS repouso	
RER		PAD repouso	
Eq O ₂		PAS pico	
Eq CO ₂		PAD pico	

Cinética de recuperação de O₂ normal alterada missing

Potência circulatória _____ Ventilação periódica _____

