

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

**EXCESSIVA ATIVIDADE DE REMODELAMENTO VENTRICULAR SINALIZA
LIMITADA RESPOSTA TERAPÊUTICA AO MANEJO AGRESSIVO DA
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA AVANÇADA**

MARCELLO ÁVILA MASCARENHAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, como requisito à obtenção do título de Doutor em Cardiologia.

Orientador: Profa. Dr. Nadine Oliveira Clausell

Porto Alegre

2004

Agradecimentos

Aos pacientes;

Minha orientadora;

Bolsistas do Grupo da IC do HCPA, em especial, acadêmica Livia Goldraich;

Grupo de Insuficiência Cardíaca do HCPA;

Minha esposa Rita e filha Marcella;

Minha família; e

Amigos.

Os sacrifícios pessoal e profissional demonstram a esperança de que os meus limites e superações sejam atingidos.

SUMÁRIO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	5
1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
1.1 INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.....	6
1.2 METALOPROTEINASES DE MATRIZ EXTRACELULAR.....	8
1.3 SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO APÓS IAM – FIBROSE PÓS-IAM.....	9
1.4 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA (SRAA).....	11
1.5 SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO	12
1.6 PAPEL DA MODULAÇÃO IMUNOINFLAMATÓRIA.....	13
1.7 IMPACTO CLÍNICO DO TRATAMENTO OTIMIZADO	15
1.8 USO DO ECOCARDIOGRAMA BIDIMENSIONAL PARA OTIMIZAÇÃO TERAPÊUTICA	16
1.9 MONITORIZAÇÃO DE REMODELAMENTO VENTRICULAR	17
2 OBJETIVOS	18
2.1 GERAL	18
2.2 ESPECÍFICOS.....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
 ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS	
Excessiva Atividade de Remodelamento Ventricular Sinaliza Limitada Resposta Terapêutica ao Manejo Agressivo da Insuficiência Cardíaca Avançada.....	29
Resumo	30
Introdução	32
Pacientes e Métodos.....	33
Delineamento do estudo e população estudada.....	33
Logística e procedimentos do estudo.	34
Estratégia orientada pela ecocardiografia.	36
Estratégia orientada clinicamente.....	37
Definição dos objetivos e desfechos do estudo.	38
Coleta de sangue e determinação dos marcadores biológicos.	38
Análise estatística.....	39

Resultados	40
Características dos pacientes.	40
Níveis de MMP-1.	43
Níveis de PIIINP.	43
Parâmetros hemodinâmicos.	44
Frequências de uso das medicações.	44
Correlação entre marcadores biológicos e pressões de enchimento.	45
Desempenho do escore de marcadores biológicos combinados em relação às pressões finais de cavidades direitas.	47
Discussão	49
Limitações do Estudo	53
Conclusões	53
Referências Bibliográficas	55

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Excessive Activity of Ventricular Remodeling Signals Limited Therapeutic Response in the Aggressive Management of Advanced Heart Failure.....	60
Abstract	61
Introduction	63
Patients and Methods	64
Study design and studied population.	64
Logistics and study procedures.	65
Echocardiography-guided strategy.....	66
Clinically guided strategy.	68
Definition of study objectives and outcomes.	68
Blood sampling and measurement of biological markers.....	68
Statistical analysis.....	70
Results	71
Patient characteristics.	71
MMP-1 levels.	73
PIIINP levels.	73
Hemodynamic parameters.....	74
Drug use pattern.	75
Correlation between biological markers and filling pressures.....	76
Performance of the score of combined biological markers in relation with the final pressures of right-side cavities.	78
Discussion	80
Study Shortcomings.....	83
Conclusions	84
ANEXO.....	90

Fundamentação Teórica

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica ocasionada por incapacidade do coração de manter a perfusão necessária aos tecidos (1). Em geral, esta síndrome é estabelecida quando há inadequação dos mecanismos de compensação (2).

Pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a IC é considerada uma pandemia, desse modo, constituindo um dos três principais agravos crônicos à saúde (1). Estima-se que os Estados Unidos da América tenham 4.700.000 portadores desta doença, e que sejam diagnosticados anualmente 550.000 casos, causando 280.000 mortes ao ano. No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) computou cerca de 398.000 internações por insuficiência cardíaca no ano de 2000, dentre as quais, 26.000 foram a óbito. Estima-se que, em 2025, o Brasil detenha a sexta maior população idosa do mundo e que a IC será a primeira causa de morte por doença cardiovascular (4,5). A IC é uma doença grave que acomete principalmente idosos com mais de 65 anos.

O remodelamento ventricular (RV) consiste na alteração importante da geometria cardíaca, com perda da função ventricular esquerda e prejuízo da eficiência biomecânica do coração após um insulto ao miocárdio. As causas de RV são, possivelmente, devido à sobrecarga de pressão ou de volume, à necrose ou a processo inflamatório (6,7,8).

Pfeffer e Braunwald (2) propuseram um modelo experimental de infarto em ratos para estudar as implicações do remodelamento ventricular associadas à resposta inflamatória. A partir deste estudo, foi demonstrada que a oclusão aguda de uma artéria coronária, em especial, quando ocorrem lesões transmurais de grandes proporções, resulta em alterações complexas da arquitetura ventricular logo após obstrução arterial, que progride com o decorrer dos dias após uma isquemia inicial. Estas alterações são decorrentes do acúmulo de colágeno que provoca a rigidez da parede reparando o tecido lesado (8, 9).

A injúria vascular provoca a ativação do sistema de compensação para manter o débito cardíaco. Para tanto ocorre distensão aguda do tecido miocárdico, aumento da atividade cronotrópica e ionotrópica secundária à estimulação simpática. Esta compensação tende a restabelecer o volume sistólico e está associada com menor sobrevida do paciente (6,8).

Também, são descritos outros mecanismos de resposta compensatória ao desenvolvimento do infarto miocárdico não infartado, como estresse da parede ventricular, tamanho de infarto e cicatrização tecidual, que podem influenciar a dilatação ventricular (2,4,5). Diversos estudos foram delineados com o emprego de terapias de reperfusão possibilitando a recuperação do tecido miocárdico, apresentando como resultado a redução da área infartada e melhora do desempenho ventricular (10)

Conduas clínicas com estratégias terapêuticas possibilitam uma carga e tensão menor na parede ventricular esquerda e estão relacionadas com atenuação da dilatação ventricular inicial, tardia ou remota (11,12).

Pfeffer (6) mostraram que o uso prolongado de captopril, que é um inibidor da enzima de conversão da angiotensina (IECA), está associado com uma redução significativa da dilatação ventricular subsequente, bem como um incremento importante na sobrevida (12, 13, 14). Tais estudos apresentaram o pioneirismo ao sugerir que a angiotensina exercesse efeitos deletérios sobre o tecido miocárdico, influenciando negativamente o remodelamento ventricular (6). Além disso, várias estratégias terapêuticas vêm sendo testadas para atenuar o processo do uso estabelecido de inibidores de enzima conversora angiotensina.

A cicatrização tecidual está entre os fatores que podem interferir na dilatação ventricular, certamente, sendo o aspecto menos explorado do ponto de vista terapêutico até o momento. O processo de cicatrização pode ser influenciado, durante a fase aguda do infarto, pelo uso de glicocorticóides e agentes antiinflamatórios não esteróides, que resulta em afinamento da parede ventricular e maior expansão da área infartada (4). Existe uma relação interligada entre os processos de cicatrização e inflamatório do tecido miocárdico necrosado, ocasionando a degradação dos tecidos conectivos e a conseqüente deposição de colágeno com a formação da cicatriz fibrótica.

Os mecanismos moleculares de RV ainda não estão totalmente esclarecidos, embora existam resultados comprobatórios sobre os processos de reparo do tecido cicatrizado (4,15).

1.2 METALOPROTEINASES DE MATRIZ EXTRACELULAR

A matriz extracelular consiste em uma formação estrutural de macromoléculas inertes, como proteínas de parede, que serve como arcabouço para célula. Este mecanismo de controle através das macromoléculas pode ser ativado de forma lenta e imperceptível, causando mudança na estrutura do tecido ao longo do tempo (16,17,18).

Por meio das fibras de colágeno do miocárdio, há um favorecimento para geometria ventricular e estrutura de conexão dos miócitos. Existem vários estudos em animais e humanos que relatam alteração na estrutura e na composição do colágeno, assim, influenciando na geometria do ventrículo esquerdo e direito (18,19,20).

O remodelamento ventricular requer, no mínimo, dois eventos como síntese e degradação de componentes de membrana extracelular, que sofrem um desarranjo proteolítico. Numerosas proteases têm sido descritas no mecanismo de degradação, a maioria proveniente de elementos de matriz extracelular, como a família das metaloproteinases de matriz extracelular (MMP) (21, 22).

As MMP são consideradas uma superfamília de proteases de serina, colagenase, gelatinase, estreolisina, metaloelastase e metaloproteinases de matriz do tipo membranas (19), que apresentam diferenças na especificidade dos substratos encontrados em vários tecidos (22, 23). Essas enzimas são, em geral, produzidas de forma latente como pró-enzima, que contém cisteína e um domínio catalítico com zinco e outro semelhante com a hemopexina (19).

A atividade das MMP pode ser verificada por transcrição, onde um *pool* de enzimas latentes é controlado pelas citocinas, fatores de crescimento e outros indutores. As enzimas latentes podem ser ativadas por proteinases, como plasminogênio, sistema plasmina e

metaloproteinases de membrana, bem como inibidas por inibidores endógenos das metaloproteinases (TIMP) (24,25,26,27).

Os fibroblastos, miofibroblastos, osteoblastos e condrócitos são células de matriz que sintetizam algumas collagenases; outras collagenases são originadas do parênquima adjacente ou de células epiteliais, endoteliais e mesoteliais (27, 28).

Os membros da família da MMP, como MMP-1, -2, -3, -9, apresentam um aumento na expressão e atividade em ratos, humanos e *in vitro* durante o processo de remodelamento, após insulto cardíaco (29,30,31,32).

Recentes dados experimentais fornecem evidências fortes que as MMP são as maiores reguladoras fisiológicas do tecido normal e maligno (30).

1.3 SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO APÓS IAM – FIBROSE PÓS-IAM

O remodelamento ventricular não ocorre de maneira homogênea após IAM, existem fatores independentes, como características morfológicas do infarto, tensão parietal e processo de reparo ou cicatrização. No caso das características morfológicas do infarto, estas não se sucedem de forma homogênea em todos os infartos (4, 33). Em relação à tensão parietal, é comum ocorrerem flutuações das condições de carga ventricular na fase aguda do IAM, interferindo no mecanismo de RV.

O processo de cicatrização ou reparo ao insulto isquêmico é considerado uma propriedade fundamental em todos os tecidos vascularizados, associado ao aumento do turnover de colágeno (1, 34, 35).

Modelos experimentais demonstraram haver um aumento de RNA mensageiro entre os colágenos I, insolúvel, e colágeno III, solúvel, logo após o IAM. Nos primeiros dois dias após um infarto do miocárdio em ratos, ocorre uma degradação da rede de colágeno no local da lesão cardíaca, associado a um aumento da razão entre os colágenos solúveis e insolúveis.

Essas alterações sucederam-se em decorrência de um aumento da atividade de metaloproteinases latentes, incluindo a colagenase intersticial (MMP-1,8,13), as gelatinases (MMP-2, 9) e outras proteases geradas no local da injúria tecidual por células inflamatórias, como leucócitos e polimorfonucleares (35,36,37).

Em ratos, foi demonstrada uma atividade colagenolítica após um infarto, com um pico característico no 7º dia, declinando progressivamente e desaparecendo até o 14º dia após o infarto. As MMP apresentam uma atividade colagenolítica inicial que pode ser mediada primariamente pela sua ativação, uma vez que a expressão de RNA mensageiro é observada somente a partir do 7º dia após o infarto, servindo para recuperar os estoques teciduais da enzima (38). O aumento da transcrição dos inibidores de metaloproteinases teciduais (TIMP) ocorre por volta do 2º dia e o seu RNA mensageiro permanece elevado pelo menos até o 14º dia após o infarto. As TIMP são potentes bloqueadores da atividade das MMP, secretadas por várias células e depositadas na matriz extracelular (39).

De forma análoga aos processos envolvidos na degradação da matriz extracelular, os genes que regulam a síntese de proteínas de matriz se ativam progressivamente a partir do primeiro dia após um dano isquêmico ao tecido miocárdico. A formação do tecido fibroso, relatada em estudo experimental realizado em corações de ratos, é visível no local de necrose, a partir do 7º dia. A concentração de hidroxiprolina, um aminoácido específico do colágeno, começa a aumentar no sítio do infarto, no final da 1ª semana, acumulando-se progressivamente por um período de pelo menos seis semanas. As fibras de colágeno tipo I e III são responsáveis pela cicatrização no sítio onde ocorre a perda de miócitos, preservando-se a integridade da estrutura tecidual (36, 37). O peptídeo amino terminal de pró-colágeno do tipo III é uma extensão do peptídeo de pró-colágeno do tipo III, durante a sua conversão, há uma clivagem estequiométrica e liberação no fluido extracelular, conseqüentemente, a elevação de PIINP pode refletir na síntese e deposição de colágeno fibrilar, alterando degradação e eliminação circulante de PIINP (37).

Os eventos moleculares que desencadeiam a fibrogênese persistem ativos por várias semanas, muito além do período inicial, quando ocorre lise do colágeno, promovendo a deposição de colágeno fibrilar, responsável pela integridade tecidual da área em cicatrização. Quando avalia-se a deposição de colágeno fibrilar nos segmentos infartados em ratos, observa-se que esta ocorre de forma paralela à expressão da MMP-9. O colágeno, entretanto,

acumula-se próximo das bordas endocárdicas e epicárdicas, promovendo sustentação e integridade mecânica ao tecido necrótico, porém, longe das regiões onde se encontra maior expressão dessa enzima. Nesse experimento, também, observou-se que as TIMP são expressas nos locais em que existe deposição de colágeno (31, 39, 40,41).

1.4 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA (SRAA)

A ativação do sistema renina angiotensina aldosterona é controlada pela enzima que converte a angiotensina I em angiotensina II, e essa constitui um potente vasoconstritor e peptídeo mitogênico sintetizado de forma sistêmica e no miocárdio (42, 43).

Os inibidores da enzima conversora angiotensina (IECA) desempenham um mecanismo bloqueador nos receptores de angiotensina por meio do acoplamento e ativação de receptores específicos (AT1 e AT2) e de aldosterona, e, conseqüentemente, apresentam resultados eficazes no tratamento da IC (44, 45, 46). Os níveis elevados de aldosterona circulante são utilizados como valor preditivo de prognóstico adverso na IC.

A angiotensina II está aumentada na insuficiência cardíaca e, por ser um vasoconstritor, proporciona um aumento da pós-carga, dessa forma, causando hipertrofia de miócito, apoptose associado à fibrose intersticial, remodelamento cardíaco e vascular, aumento da síntese de proteínas de matriz, expressão de protooncogenos, produção de fatores de crescimento e a secreção de aldosterona. Essa última demonstra um papel primordial no remodelamento cardíaco, sendo portanto apoptose (47).

A partir destas alterações celulares, ocorre uma redução da complacência arterial, que altera o enchimento ventricular e provoca o endurecimento passivo (47,48).

Existem evidências sobre a associação do sistema adrenérgico como SRAA. A produção de aldosterona reduz a reutilização neuronal de norepinefrina, aumentando as arritmias cardíacas e a resistência vascular periférica e pulmonar, com queda do débito cardíaco, aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio, redução do fluxo renal e retenção

de sódio e água, contribuindo para deterioração clínica e hemodinâmica, aumentando a morbimortalidade na IC (48,49,50,51).

1.5 SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO

O sistema nervoso simpático, na insuficiência cardíaca crônica, atua na redução da contractilidade e do débito cardíaco. Existe uma relação de mecanismos entre a vasoconstrição e o aumento da contratilidade miocárdica essencial para manter a pressão sanguínea e, desse modo, aumentando a pós-carga ventricular, sobrecarregando o ventrículo, assim, tornando-o insuficiente (52, 53, 54).

A ativação deste sistema contribui para um aumento na frequência cardíaca e do consumo de energia pelo miocárdio, que causa uma hipertrofia isquêmica, taquiarritmias e altera a arquitetura dos miócitos (53,54).

Existe uma hipótese de que a hiperativação simpática provoque um efeito nocivo com a diminuição do número e sensibilidade dos receptores beta-1 adrenérgicos do miocárdio, contribuindo para a redução de sensibilidade dos tecidos cardíacos ao estímulo adrenérgico. Portanto, ocorre uma indução à expressão das citocinas pró-inflamatórias como fator necrose tumoral- α (TNF- α), interleucinas (IL-1, IL-6), que alteram o fenótipo da miocardiopatia dilatada estimulada pelo aumento das câmaras (53,54,55,56). Na IC grave, há o bloqueio agudo dos receptores betaadrenérgicos que intensifica esse processo (56).

Entretanto, por meio de estudos experimentais e evidências clínicas, com aumento gradual da dose de betabloqueadores, foi mostrado um benefício clínico substancial. O uso crônico dos betabloqueadores permite restaurar o número e a sensibilidade dos receptores adrenérgicos na superfície do miocárdio, modulando de maneira benéfica a resposta do coração ao estímulo simpático sistêmico (57).

A resposta dos efeitos funcionais do bloqueio crônico do miocárdio é diferente do bloqueio agudo, porque, em prazos superiores a três meses, a injúria está associada com a melhora da função sistólica intrínseca e o decréscimo no volume ventricular (55,58, 59, 60).

Estudos com betabloqueadores de modulação da atividade ionotrópica foram propostos para mostrar benefícios nos pacientes com IC, contrariando a idéia de que os betabloqueadores poderiam ser deletérios. Portanto, diversos são os ensaios laboratoriais que demonstraram melhora dos sintomas da IC, da fração de ejeção e diminuição dos diâmetros cardíacos com esses fármacos (59, 60, 61, 62).

O estudo II do Bisoprolol na Insuficiência Cardíaca (CIBIS-II) avaliou o uso de bucindolol em pacientes com insuficiência cardíaca, com classe funcional III ou IV, e demonstrou a melhora das classes funcionais com a diminuição das descompensações clínicas, além de evidenciar a redução da mortalidade em pacientes com miocardiopatia dilatada idiopática (61,63, 64).

Estudos realizados com Carvedilol, betabloqueador não seletivo e vasodilatador com propriedades antioxidantes, mostraram o menor índice de mortalidade em níveis não observados com nenhuma outra droga do arsenal terapêutico da insuficiência cardíaca. Tornase evidente a capacidade dos betabloqueadores protegerem o miocárdio dos efeitos deletérios da estimulação simpática excessiva, provavelmente, por restaurarem a densidade dos receptores beta e resposta contrátil ao estímulo adrenérgico (65).

Tais estudos demonstram a importância da otimização terapêutica no acompanhamento de pacientes com insuficiência cardíaca.

1.6 PAPEL DA MODULAÇÃO IMUNOINFLAMATÓRIA

A modulação imunoinflamatória tem sido relacionada à fisiopatogenia da IC. Diversos estudos demonstraram atividade celular ou humoral em diversas formas de IC, bem como aumento na concentração sérica de diversos marcadores inflamatórios.

As citocinas são mediadores biológicos de origem inflamatória que têm sido encontradas em concentrações séricas elevadas, em pacientes com IC (66). De forma geral, as citocinas são moléculas proteicas de baixo peso molecular (15 a 30kd), sintetizadas por diferentes tipos celulares em resposta a inúmeros estímulos fisiológicos e nocivos. Agentes

vasodepressores e inotrópicos negativos, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), encontram-se em concentrações elevadas em pacientes com IC. Estes mediadores aumentam indiretamente a expressão da enzima óxido nítrico sintetase induzida (iNOS), aumentando a concentração de óxido nítrico, reduzindo a contratilidade cardíaca e promovendo efeitos tóxicos através da indução de apoptose (66, 67, 68).

Estudos realizados por Mann e Young propuseram que a expressão de citocinas pró-inflamatórias seja secundária a mecanismos compensatórios na IC, como o aumento das catecolaminas circulantes ou da angiotensina II. Estes neuro-hormônios, quando em níveis elevados, produzem injúria tecidual e necrose miocárdica, resultando na ativação de células mononucleares e aumento na produção destas citocinas (69). A produção periférica de citocinas é decorrência da ativação imunoinflamatória, sendo a disfunção endotelial outra hipótese para explicar o aumento da concentração destes mediadores na IC.

Em recente estudo realizado, foi constatada uma maior concentração de TNF- α no sangue periférico de pacientes com insuficiência cardíaca quando comparados com o grupo controle. Esses achados confirmaram o que a literatura descreve e foi demonstrada uma maior concentração de TNF e seus receptores solúveis em pacientes com IC em relação a indivíduos controles, sugerindo que a síntese da citocinas na insuficiência cardíaca seja periférica (69, 70, 71).

Pacientes com IC de classe funcional III ou IV apresentam uma elevação TNF, que podem ser de origem sistêmica e tecidual. Entretanto, não foram demonstradas diferenças nas concentrações dos receptores do TNF neste dois locais, mas existe uma correlação inversa entre a concentração de TNF e seus receptores com a fração de ejeção na população estudada, confirmando a hipótese que estas moléculas sejam marcadores de prognóstico na insuficiência cardíaca (72).

O TNF- α é a citocina mais estudada na busca de uma correlação entre a modulação imunoinflamatória e a fisiopatogenia da IC. De maneira geral, a maior fonte de TNF- α em humanos é o macrófago ativado, embora diversas outras células possam produzir esta citocina. O principal efeito deletério desta citocina, no sistema cardiovascular, é a depressão da função ventricular em consequência do aumento de produção de óxido nítrico (72,73).

Levine e cols. (67), em 1990, foram os primeiros pesquisadores a demonstrar níveis elevados de TNF- α em pacientes com IC, correlacionando níveis desta citocina com a gravidade dos sintomas em 33 pacientes, com IC classe III ou IV da NYHA .

Recentemente, Satoh et al. detectaram a presença de uma enzima conversora do TNF- α no miocárdio de pacientes com miocardiopatia dilatada, que resultaria na produção de uma forma inativa que transforma o seu precursor na forma ativa. Nesse estudo, houve uma correlação significativa entre os níveis desta enzima, a expressão do TNF- α e a gravidade da doença (9, 71,74).

Mehra e cols. (83), por sua vez, avaliaram a atividade do TNF- α circulante em pacientes com IC classe IV, submetidos a tratamento intravenoso agressivo, não demonstrando redução dos níveis circulantes desta citocina com tratamento inferiores a uma semana. Desconhece-se o desempenho destes marcadores durante o manejo terapêutico otimizado em nível ambulatorial.

1.7 IMPACTO CLÍNICO DO TRATAMENTO OTIMIZADO

Diversas associações de fármacos são utilizadas no manejo terapêutico de pacientes da IC com objetivo de reduzir a progressão da doença, melhorar a capacidade funcional e diminuir a mortalidade. Apesar do manejo agressivo com fármacos, os índices de hospitalizações e de reinternações por IC continuam elevados (75, 76), sendo que, para alguns, o transplante cardíaco passa a ser uma alternativa em potencial (76, 77). Portanto, uma abordagem terapêutica eficaz serve para diminuir sintomas e auxiliar na melhora da estratificação de risco dos pacientes (77).

Nos últimos anos, tem sido proposta uma abordagem diferenciada no manejo de pacientes ditos refratários. Esta inclui a utilização de vasodilatadores e diuréticos intravenosos em altas doses, guiada pela monitorização hemodinâmica invasiva com o objetivo principal de reduzir as pressões de enchimento ventricular e a resistência vascular.

Stevenson e cols. (8) observaram que alguns pacientes encaminhados para avaliação pré-transplante cardíaco apresentaram inadequação hemodinâmica em consequência a um tratamento ineficaz .

A inclusão na lista de espera para o transplante poderia ser postergada para aqueles pacientes que alcançassem uma resposta hemodinâmica adequada com a otimização desta, abrindo espaço para pacientes mais graves e refratários serem colocados em lista (75, 76).

Apesar da eficácia desta abordagem em otimizar o tratamento medicamentoso de pacientes com IC em nível de CTI, limita-se a pacientes que necessitem de hospitalização e requeiram ambiente de terapia intensiva para sua implementação. Como o número de pacientes com IC continua aumentando, novas estratégias serão necessárias para prevenir a evolução da doença, sendo preciso utilizar outros métodos de monitorização (76, 77).

1.8 USO DO ECOCARDIOGRAMA BIDIMENSIONAL PARA OTIMIZAÇÃO TERAPÊUTICA

Em pacientes com IC grave, referidos para centros de transplante cardíaco, Stein e cols. demonstraram que a ecocardiografia com Doppler a cores pode, de forma não invasiva, fornecer dados hemodinâmicos com altas correlações comparativamente àqueles obtidos pelo cateterismo cardíaco direito (78). Através desta estratégia, é possível a obtenção estimada da pressão em artéria pulmonar, capilar pulmonar, índice cardíaco, resistência vascular sistêmica e pulmonar e outros (78).

O desfecho dos marcadores biológicos no remodelamento ventricular e ativação imunoinflamatória, bem como o método ecocardiográfico de Doppler ainda não foram avaliados de forma prospectiva como guia do manejo terapêutico de pacientes de ambulatorio com IC.

1.9 MONITORIZAÇÃO DE REMODELAMENTO VENTRICULAR

No acompanhamento de pacientes pós-infarto agudo do miocárdio, os volumes ventriculares têm sido utilizados como indicadores prognósticos importantes. Quanto maior o diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo avaliado por ecocardiograma pior é o prognóstico clínico esperado (79,80,81). Este achado reflete, de fato, o processo final do remodelamento ventricular. O monitoramento deste processo pode ser realizado pela dosagem de alguns destes elementos no plasma, podendo indicar o grau de remodelamento em atividade (80).

Recentemente, índices que refletem a síntese e a degradação do colágeno, assim como a presença de metaloproteinases, têm sido estudados no pós-infarto, demonstrando haver correlação com diâmetros ventriculares e indicando limitação no prognóstico. Quanto maiores os níveis de PIIINP maior será o volume sistólico final, pós-infarto, associado com a diminuição na sobrevivência dos pacientes em 30 dias (79, 80, 81, 82).

A partir dos conhecimentos da importância da matriz extracelular, do seu turnover e do seu controle pela ação das metaloproteinases, a capacidade de mensuração destes eventos em pacientes com IC crônica pode esclarecer o ritmo do processo de remodelamento ventricular, assim como do grau de atividade inflamatória que parece acompanhar este processo e correlacionar-se com diferentes esquemas terapêuticos (81, 83, 84, 85).

Recentemente, Zannad e cols. (13) demonstraram que uso de espironolactona reduziu o grau de *turnover* da matriz extracelular quando avaliado pelos níveis séricos do produto de degradação do colágeno (4). Além disso, têm sido demonstrados que o aumento dos produtos de degradação do colágeno e das metaloproteinases em pacientes com IC de diferentes etiologias trazem informações prognósticas (13).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Explorar uma visão abrangente do processo de remodelamento em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva crônica medindo níveis de três componentes-chave do processo: uma citocina pró-inflamatória, TNF- α , uma metaloproteinase de matriz extracelular (MMP-1) e um produto do *turnover* matricial, N-peptídeo pró-colágeno tipo amino-terminal III (PIIINP).

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a concentração plasmática de MMP-1 antes e após a otimização clínica de pacientes ambulatoriais com IC congestiva.
- Avaliar a concentração plasmática de TNF- α antes e após a otimização clínica de pacientes ambulatoriais com IC congestiva.
- Avaliar a concentração plasmática de PIIINP antes e após a otimização clínica de pacientes ambulatoriais com IC congestiva.
- Associar as concentrações plasmáticas de MMP-1, TNF- α , PIIINP com as pressões de enchimento, PSPA e PAD nos pacientes acompanhados pelos ambulatoriais com IC congestiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weber KT, Anversa P, Armstrong PW, et al. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Cardiol* 1992; 20:03-16.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular Remodeling after myocardial infarction – experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161-1172.
3. Colluci WS, Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E. *Heart Disease. A Textbook of cardiovascular medicine*. 6th ed 2001 W. B. Saunders Company p. 397-429.
4. Weber K. Monitoring Tissue Repair and Fibrosis from a distance *Circulation* 1997;96:2488-2492.
5. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction- the framingham heart study. *Circulation* 2003; 107:1486-1491.
6. Pfeffer M. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Ann Rev Med* 1995; 46:455-466.
7. Packer M, et al. Physiologic determinants of survival in congestive heart failure. *Circulation* 1987; 75 (suppl IV):IV1-IV3.
8. Stevenson LW, Tillisch JH, Hamilton M, et al. Importance of hemodynamic response to therapy in predicting survival with ejection fraction $\leq 20\%$ secondary to ischemic or nonischemic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1990; 66:1348-54.
9. Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Proinflammatory cytokines regulate tissue inhibitors of metalloproteinases and disintegrin metalloproteinase in cardiac cells. *Cardiovasc Res* 1999; 42:162-72.

10. Baker BD, et al. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in adult. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38(7):2101-2113.
11. Noji Y, Shimizu M, Ino H, et al. Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is characterized by disproportionate left ventricular (LV) hypertrophy and LV diastolic dysfunction. *Circulation* 2004; 68:214-219.
12. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, et al. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* 2001; 104:1147-1152.
13. Zannad F, Alla F, Dousset B, et al. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure- insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). *Circulation* 2000;102:2700-2706.
14. Devereux RB, Roman MJ, Liu JE, et al. Congestive heart failure despite normal left ventricular systolic function in a population-based sample: the strong heart study. *Am J Cardiol*; 86; 1090-1096.
15. Clausell N, Ribeiro JP. Em busca de novos paradigmas para o manejo da insuficiência cardíaca. *Arq Brasil Cardiol* 1998;71:563-574. (40).
16. Cleutjens JPM, Verluyten MJA, Smits JFM, et al. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart *Am J Pathol* 1995; 147:325-338.
17. Wilson EM, Moainie SL, Baskin JM, et al. Region and type –specific induction of matrix metalloproteinases in post-myocardial infarction remodeling. *Circulation* 2003; 107:2857-2863.
18. Peterson JT, Li H, Dillon L, et al. Evolution of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression during heart failure progression in the infarcted rat. *Cardiovascular Research* 2000; 46:307-315.

19. Marshall BC, Santana A, Xu Q-P, et al. Metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in mesothelial cells –Cellular Differentiation influences expression. *J clin invest* 1993, 91:1792-1799.
20. Rohde LE , Ducharme A, Arroyo L H, et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation* 1999, 99:3063-3070.
21. Hiraoka N, Allen E, Apel IJ, et al. Matrix Metalloproteinases regulate Neovascularization by acting as pericellular fibrinolysins. *Cell* 1998; 95:365-377.
22. Tyagi S, Ratajska A, Weber K T. Myocardial matrix metalloproteinase (s): localization and activation *Mol Cell Biochem* 1993;126:49-59.
23. Mukherjee R, Brinsa TA, Dowdy K, et al. Myocardial infarct expansion and matrix metalloproteinase inhibition *Circulation* 2003;107: 618-625.
24. Denhardt DT, Feng B, Edwards DR, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP, aka EPA): Structure, control of expression and biological functions *Pharmacol Ther* 1993;59:329-341.
25. Spinale F, Coker ML, Thomas CJ, et al. Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure-Relation to ventricular and myocyte function *Circ. Res* 1998;82:482-495
26. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in Heart Failure *Circulation* 2000; 102:1944-1949.
27. Keiseier BC, Schneider C, Clements JM, et al. Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies. *Brain*, 2001; 124(2):341-351.

28. Knox JB, Sukhova GK, Whittmore AD, et al Evidence for altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in human aortic diseases. *Circulation* 1997;95:205-212.
29. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling : the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 2003; 200: 448-464.
30. Tsurada T, Costello-Boerrgte LC, Burnett JC. Matrix metalloproteinases: Pathways of induction by bioactive molecules. *Heart Failure Rev.* 2004;09:53-61.
31. Blankenberg S, Rupprecht H, Poirier O, et al Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*, 2003; 107:1579-1585.
32. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, Rabkin E, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J Clinical Invest.* 2000;106:55-62.
33. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, et al. The Biosynthesis of collagen and its disorders (First of two parts) *N Engl. J Med* 1979; 301 (5): 15-21.
34. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, et al. The Biosynthesis of collagen and its disorders (Two of two parts) *N Engl. J Med* 1979; 301 (12): 77-85.
35. Tremble PM, Lane T, Sage EH, et al. A secreted protein associated with morphogenesis and tissue remodeling induces expression of metalloproteinases in fibroblasts through a novel extracellular matrix-dependent pathway *J of Cell Biol* 1993; 121 (6):1433-1444.
36. Ward M, Pasterkamp G, Yeung A, Borst C Arterial Remodeling-Mechanisms and clinical implications *Circulation* 2000; 102:1186-1191.
37. Jensen M, Horslev-Petersen K, Tolf P, Bentsen KDM, Grande P, Simonsen EE, Lorenzen IB. Serum aminoterminal type III Procollagen Peptide repair after acute myocardial infarction *Circulation* 1990; 81, 52-57.

38. Cleutjens JPM, Kandala JC, Guarda E, et al. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:1281-1292.
39. Omerovic E, Bollano E, Basetti M, et al. Bioenergetic, functional and morphological consequences of postinfarct remodeling cardiac in the rat. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31:1685-1695 .
40. Modena MG, Mollinari R, Rossi R, et al. Modification in serum concentrations of aminoterminal propeptide of type III procollagen in patients with transmural myocardial infarction. *Am Heart J* 1998;135:287-292.
41. Siwik DA, Colucci WS. Regulation of matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:43–51.
42. Pelouch V, Dixon IMC, Sethi R and Dhalla N. Alteration of collagenous protein profile in congestive heart failure secondary to myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 1994;129:121-131.
43. Tulevski II, Groenink M, van der Wall EE, Veldhuisse DJ, Boomsma F, Stoker J, Hirsch A, Lemkes JS, Mulder BJ. Increased brain and atrial natriuretic peptides in patients with chronic right ventricular pressure overload: correlation between plasma neurohormones and right ventricular dysfunction. *Heart* 2001;86:27-30.
44. Adams KF, Marthur VS, Gheoghiade. β -Type natriuretic peptide: From bench to bedside. *Am Heart J* 2003; 145:S34-46.
45. Dixon IMC, Ju H, Fleur TS, Werner J P, Jasmin G. Cardiac collagen remodeling in the cardiomyopathic syrian hamster and the effect of losartan. *J MOL Cell Cardiol* 1997; 29:1837-1850.
46. Noji Y, Shimizu M, Ino H, et al. Increased Circulating Matrix Metalloproteinases in patients with hypertrophic cardiomyopathy with systolic dysfunction. *Circulation J* 2004;68:335-360.

47. Rohde LE, Furiant T, Campos C, et al. Implications of the Hemodynamic optimization approach guide by right heart catheterization in patients with severe heart failure. *Arquivos Bras. Cardiol* 2002; 78(3):261-266.
48. Yarbrough W, Mukherjee R, Escobar P, et al. Selective targeting and timing of Matrix metalloproteinase inhibition in post-myocardial infarction remodeling *Circulation* 2003; 108:1753-1759.
49. Mann DL, Taegtmeyer H Dynamic Regulation of the Extracellular Matrix After Mechanical Unloading of the Failing human Heart – Recovering the missing link in left ventricular remodeling. *Circulation* 2001; 104:1089-1091.
50. DeClerk YA, Mercurio A, Stack MS, et al. Protease, Extracellular Matrix, and Cancer. *Am J of Pathology* 2004;164:1131-1139.
51. Bosman F, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *J Pathol* 2003; 200:423-428.
52. Szmitko PE, Wang CH, Weisel R, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: part I *Circulation* 2003, 108 (16):1917-1923.
53. Ward M, Pasterkamp G, Yeung A, et al. Arterial Remodeling-Mechanisms and clinical implications *Circulation* 2000; 102:1186-1191.
54. Zanolza L, Marino P, Golia G, et al. The extent of regional wall motion abnormalities identifies patients at risk of extensive left ventricular remodeling: implications for the design of post myocardial infarction trials *G Ital Cardiol*, 1999;29:20-26.
55. Solomon S D, Sutton MJ, Lamas GA, et al. Ventricular remodeling does not accompany the development of heart failure in diabetic patients after myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106:1251-1255.
56. Aladdad I, Hakim I, Siddiqi F, et al. Early exercise after experimental myocardial infarction: effect on left ventricular remodeling *Coronary Art Dis* 1998;09:319-327.

57. Mintz GS, Kent K, Pichard AD, et al. Contribution of inadequate arterial remodeling to the development of focal coronary artery stenoses. *Circulation* 1997; 95:1791-1798.
58. Hansen PR, Holm AM, Andersen CB, et al. Aminoguanidine induces constrictive vascular remodeling and inhibits smooth muscle cell death after balloon injury. *European J of Pharmacology* 1999;372:157-166.
59. Suematsu N, Tsutsui H, Wen J, et al. Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes *Circulation* 2003; 107:1418-1423.
60. Bozkurt B, Torre-Amione G, Warren MW, et al. Results of Targeted anti-tumor necrosis factor therapy with etanercept (ENBREL) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2001; 103:1044-1047.
61. The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure (consensus) *N Engl. J. Med* 1987; 316:1429-1435.
62. Driss AB, Himert C, Poitevin P, et al. Enalapril improves arterial elastic properties in rats with myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999;34:102-107.
63. 2th The cardiac insufficiency bisoprolol study II (CIBIS –III) A Randomised Trial. *The Lancet* 1999; 353:09-13.
64. MERIT-HF. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metoprolol Cr/XL randomized intervention trial in congestive heart failure. *The Lancet* 1999; 353:2001-2007.
65. Aukrust P, Ueland T, Bendtzen K, et al. Cytokine network in congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 1999;83:376-382.
66. Packer M, Coats JSC, Fowler MB, et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N. Engl. J. Med,* 2001;344 (22):1651-1658.

67. Levine B, Kalman J, Mayer L, et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N. Engl. J Med* 1990; 323:236-241.
68. Feldman AM, Combes A, Wagner D, et al. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:537-544.
69. Kubota T, Miyagishima M, Alvarez R, et al. Expression of proinflammatory cytokines in the failing human heart: comparison of recent-onset and end-stage congestive heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19:819-824.
70. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Yong J B, Mann D. Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptor in failing human heart. *Circulation* 1996; 93: 704-711.
71. Dibbs ZI, Diwan A, Nemoto S, DeFreitas G, et al. Target Overexpression of transmembrane tumor necrosis factor provokes a concentric cardiac hypertrophic phenotype. *Circulation* 2003, 108 (8):1002-1008.
72. Grossman G, Rohde LEP, Clausell N. Evidence for increased peripheral production of tumor necrosis factor- α in advanced congestive heart failure. *Am J. Cardiology* , 2001; 88:578 - 581
73. Hofer IE, Royen NV, Rectenwald JE, et al. Direct evidence for tumor necrosis factor - α signaling in arteriogenesis. *Circulation* 2002; 105:1639-1641.
74. Suematsu N, Tsutsui H, Wen J, et al. Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes *Circulation* 2003; 107:1418-1423.
75. Sem S, Bumpus FM. Collagen Synthesis in development and reversal of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *The Amer. J of Cardiology*, 1979; 44 (22):954-958.

76. Suematsu N, Tsutsui H, Wen J, et al. Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes. *Circulation* 2003; 107:1418-1423.

77. Krasinski K, Spyridopoulos I, Kearney M, et al. In vivo Blockade of tumor necrosis factor- α accelerates functional endothelial recovery after balloon angioplasty. *Circulation* 2001; 104:1754-1756.

78. Tamura N, Ogawa Y, Chursco H, et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *PNAS*, 2000; 97 (8):3783-4410.

79. Mann DL, Taegtmeyer H. Dynamic Regulation of the Extracellular Matrix After Mechanical Unloading of the Failing human Heart – Recovering the missing link in left ventricular remodeling. *Circulation* 2001; 104:1089-1091.

80. DeClerk YA, Mercurio A, Stack MS, et al. Protease, Extracellular Matrix, and Cancer. *Am J of Pathology* 2004; 164:1131-1139.

81. Szmitko PE, Wang CH, Weisel R, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: part I. *Circulation* 2003, 108 (16):1917-1923.

82. Cohn J. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:569-82.

83. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, et al. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* 2001; 104:1147-52.

84. Rohde LEP, Cheng C, Ridker S, et al. Echocardiographic-derived left ventricular end-systolic regional wall stress and matrix remodeling after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(3):835–42.

85. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, et al. Predischarge B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of re-admission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 18:635-41.

Artigo Original em Português

Excessiva Atividade de Remodelamento Ventricular Sinaliza Limitada Resposta Terapêutica ao Manejo Agressivo da Insuficiência Cardíaca Avançada

Subsidiado em parte pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE-HCPA).

Resumo

Introdução: Níveis de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), N-peptídeo do pró-colágeno III (PIIINP) e metaloproteinase de matriz -1 (MMP-1), marcadores biológicos de remodelamento ventricular, estão elevados em pacientes com insuficiência cardíaca (IC), talvez refletindo elevadas pressões de enchimento. A correlação destes marcadores com variáveis clínicas e hemodinâmicas permanece pouco compreendida, particularmente no contexto ambulatorial da IC.

Objetivo: Avaliar níveis séricos de marcadores biológicos de remodelamento ventricular em pacientes com IC, comparando tratamento guiado por ecocardiografia (ECO), buscando redução de pressões de enchimento, *versus* tratamento convencional (CLÍNICO), baseado em sinais e sintomas.

Métodos: Ensaio clínico randomizado. Pacientes estáveis com IC e fração de ejeção menor do que 40% foram alocados entre os grupos de tratamento e submetidos a ecocardiograma e coletas de sangue no início do estudo e em 180 dias. TNF- α e MMP-1 foram medidos por ELISA, e PIIINP, por radioimunoensaio.

Resultados: Incluiu-se 80 pacientes, com 59 ± 15 anos e fração de ejeção de $26 \pm 7\%$; 25% isquêmicos e 52% masculinos. Houve redução dos marcadores biológicos intragrupos, não havendo diferença entre os tratamentos. No grupo CLÍNICO, os níveis de TNF- α , MMP-1 e PIIINP apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os momentos basal e final (respectivamente, $3,11 \pm 2,90$ *versus* $1,24 \pm 0,60$ pg/mL $p < 0,0003$; $2,66 \pm 1,00$ *versus* $1,16 \pm 0,40$ ng/mL $p < 0,0001$; $6,12 \pm 2,60$ *versus* $3,89 \pm 1,60$ $\mu\text{g/L}$ $p < 0,0001$). De maneira semelhante, tal diferença também foi observada no grupo ECO para os três marcadores (respectivamente, $3,90 \pm 4,90$ *versus* $1,40 \pm 1,30$ pg/mL $p < 0,0001$; $2,50 \pm 0,90$ *versus* $1,09 \pm 0,40$ ng/mL $p < 0,0001$; $6,09 \pm 2,60$ *versus* $3,50 \pm 1,30$ $\mu\text{g/L}$ $p < 0,0001$). Ao final da intervenção, no entanto, não foi observada diferença significativa dos valores de TNF- α , MMP-1 e PIIINP entre os dois grupos de tratamento ($p = 0,7$; $p = 0,8$; e $p = 0,2$; respectivamente). A combinação dos valores basais das variáveis biológicas gerou um escore que se associou significativamente com o comportamento final das pressões atrial direita e sistólica da artéria pulmonar. Pacientes com marcadores biológicos basais no quartil 75% mantiveram níveis

superiores de pressões atrial direita (13 mmHg; $p = 0,034$) e sistólica de artéria pulmonar (60 mmHg; $p = 0,007$) ao final do seguimento.

Conclusão: Independente do tratamento alocado, houve redução dos níveis de marcadores biológicos ao final do seguimento; no entanto, níveis basais mais elevados destes marcadores foram preditores de menor redução das pressões em átrio direito e sistólica da artéria pulmonar. Os dados sugerem que indicativos de intenso processo de remodelamento ventricular se associam à progressão da IC e a pressões de enchimento elevadas.

Palavras-chave: insuficiência cardíaca, fator de necrose tumoral- α , colágeno, metaloproteinases, remodelamento ventricular.

Introdução

Mecanismos imunoinflamatórios parecem desempenhar papéis importantes na progressão da insuficiência cardíaca congestiva, contribuindo o para remodelamento ventricular esquerdo (1). No mínimo três elementos fundamentais estão potencialmente envolvidos nesse processo, estabelecendo possivelmente uma ativação em cascata: 1) mediadores inflamatórios (citocinas) contribuem para a ativação de 2) metaloproteinases, que por sua vez levam à ruptura de proteínas da matriz extracelular, especialmente o colágeno fibrilar, contribuindo para acelerar 3) *turnover* da matriz e fibrose cardíaca (2, 3, 4).

O desempenho cardíaco está intrinsecamente relacionado com um alinhamento adequado dos sarcômeros, que por sua vez dependem da função fisiológica da matriz extracelular e da própria estrutura da fibra muscular cardíaca (5). Após um evento cardíaco, por exemplo, infarto agudo do miocárdio, mudanças abruptas ocorrem envolvendo tanto o músculo quanto a função cardíaca (1). A ativação das metaloproteinases é importante nesse processo, levando à perda de estrutura de matriz extracelular e da arquitetura cardíaca com subsequente comprometimento funcional (6, 7, 8). Isso por vez traduz-se em um quadro hemodinâmico adverso caracterizado por aumento de pré e pós carga e estresse parietal, que irão ativar adicionalmente metaloproteinases e a síntese de mediadores inflamatórios (9). O resultado deste ciclo ativado e auto-perpetuador é maior degradação dos componentes de matriz, bem como o seu *turnover*, atuando na progressão do remodelamento adverso do ventrículo esquerdo com consequente dilatação ventricular (10).

Medidas da síntese de proteínas da matriz no infarto agudo do miocárdio e na insuficiência cardíaca congestiva têm sido conduzidas em estudos clínicos, como indicativos do processo de remodelamento (11, 12). Um sub-estudo do ensaio RALES demonstrou que pacientes com insuficiência cardíaca apresentando níveis mais altos na circulação de marcadores de fibrose cardíaca, pró-colágeno tipo amino-terminal I e III e pró-colágeno tipo I carboxi-terminal, indicando alto *turnover* de matriz, apresentaram uma melhora significativamente maior na sobrevida em comparação a pacientes com menor grau de fibrose ativa, com o uso de espironolactona. Este resultado poderia ser

decorrente da ação da espironolactona em reduzir a síntese de fibrose, bloqueando os efeitos da aldosterona no tecido miocárdico (13).

Embora a terapia otimizada durante a hospitalização visando a diminuir as pressões de enchimento seja considerada benéfica para reduzir sintomas e para uma melhor sobrevida livre de eventos em pacientes com insuficiência cardíaca (14), o impacto de uma terapia guiada pela hemodinâmica, mais agressiva, num ambiente ambulatorial, potencialmente reduzindo o estresse parietal, sobre o processo de remodelamento permanece em grande parte inexplorado.

O objetivo do presente estudo foi explorar uma visão abrangente do processo de remodelamento em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva crônica medindo níveis de três componentes-chave do processo: uma citocina pró-inflamatória, Fator de Necrose Tumoral-Alfa (TNF- α), uma metaloproteinase de matriz extracelular (MMP-1) e um produto do *turnover* matricial, N-peptídeo de pró-colágeno III (PIIINP). Para tanto nós realizamos um ensaio clínico randomizado comparando um tratamento agressivo visando um perfil hemodinâmico quase normal, guiado por ecocardiografia realizada seriadamente em pacientes ambulatoriais com insuficiência cardíaca, ao emprego de estratégia terapêutica guiada clinicamente seguindo diretrizes, em relação a evidências biológicas de remodelamento ventricular.

Pacientes e Métodos

Delineamento do estudo e população estudada.

Estudo clínico randomizado prospectivo comparando duas estratégias diferentes para o manejo de pacientes ambulatoriais estáveis com insuficiência cardíaca: uma estratégia foi guiada por ecocardiografias seriadas, visando a otimização do perfil hemodinâmico em adição à adoção de medidas recomendadas por diretrizes, e a outra foi uma terapia guiada clinicamente, visando uma melhora de parâmetros clínicos de acordo com recomendações de diretrizes (15).

Foram incluídos pacientes com insuficiência cardíaca nas classes funcionais de I a IV da New York Heart Association (NYHA), que haviam apresentado pelo menos uma hospitalização ou visita à emergência por descompensação da doença durante os três meses anteriores à randomização. Os pacientes deveriam apresentar: história de insuficiência cardíaca diagnosticada nos últimos 6 meses (independente de etiologia), fração de ejeção igual ou menor do que 40%, e idade mínima de 18 anos. Excluíram-se indivíduos com incapacidade motora significativa, deformidade torácica ou doença pulmonar severa crônica impondo limitação técnica para a realização de ecocardiografia de boa qualidade, síndrome coronária aguda nos últimos três meses, doença congênita do coração, doença valvar estenótica, válvulas cardíacas prostéticas, insuficiência renal crônica em programa de diálise, miocardite aguda ou cardiomiopatia alcoólica.

Pacientes, médicos, estatísticos independentes e o ecocardiografista não foram cegados para a determinação de grupos de tratamento, enquanto que os pesquisadores que mediram os níveis de TNF- α , PIIINP e MMP-1 (desfechos principais do estudo) não estavam cientes da designação de grupos. O estudo foi conduzido conforme a Declaração de Helsinque, tendo sido o protocolo de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os pacientes assinaram consentimento esclarecido antes da inclusão.

Logística e procedimentos do estudo.

Após definição da elegibilidade, dentro de um máximo de 7 dias desde o recrutamento, os pacientes submeteram-se ao primeiro ecocardiograma de triagem para confirmar os critérios ecocardiográficos e condições técnicas aceitáveis. Tendo sido cumpridos tais critérios, foi utilizada a técnica de números aleatórios para a randomização dos pacientes entre uma das duas estratégias de tratamento: 1) terapia guiada conforme os dados hemodinâmicos obtidos através de ecocardiograma, objetivando um perfil ideal ou quase-normal, de acordo com Stevenson e col. (16), – grupo ECO; 2) terapia guiada por avaliação clínica, seguindo recomendações de diretrizes – grupo CLÍNICO (15). Amostras de sangue foram coletadas no início e no final do protocolo de estudo para avaliar níveis de TNF- α , PIIINP e MMP-1, como

detalhado a seguir. Todos os pacientes foram acompanhados no Ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital de Clínicas de Porto Alegre por cardiologistas experientes em insuficiência cardíaca. Após a visita basal, todos os pacientes realizaram consultas ambulatoriais em 30, 60 e 180 dias. No grupo ECO, cada consulta de protocolo era precedida por realização de ecocardiograma para guiar decisões terapêuticas conforme descrito abaixo, enquanto que, no grupo CLÍNICO, os pacientes eram submetidos apenas a ecocardiografias nas consultas basal e final, sem que os parâmetros hemodinâmicos obtidos fossem informados aos cardiologistas durante o acompanhamento. Para fins de análise ecocardiográfica do presente estudo, apenas os dados obtidos no primeiro (basal) e no último exame (180 dias) foram utilizados. (Figura 1).

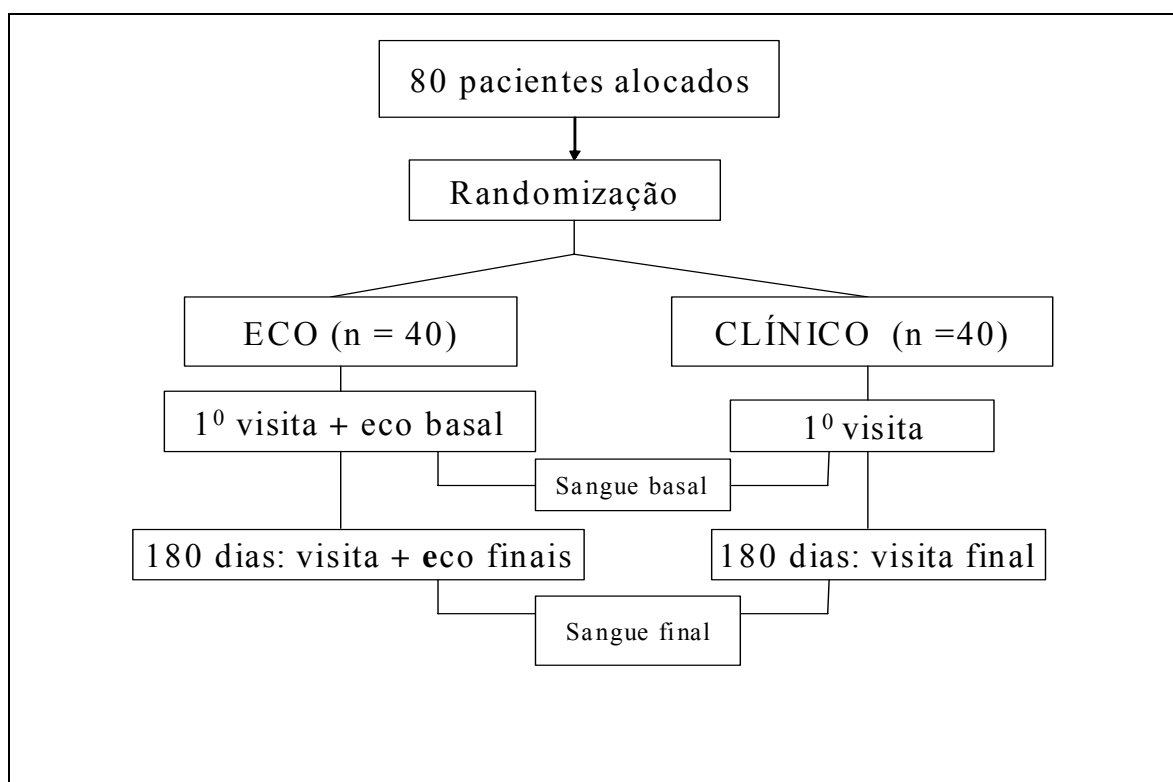
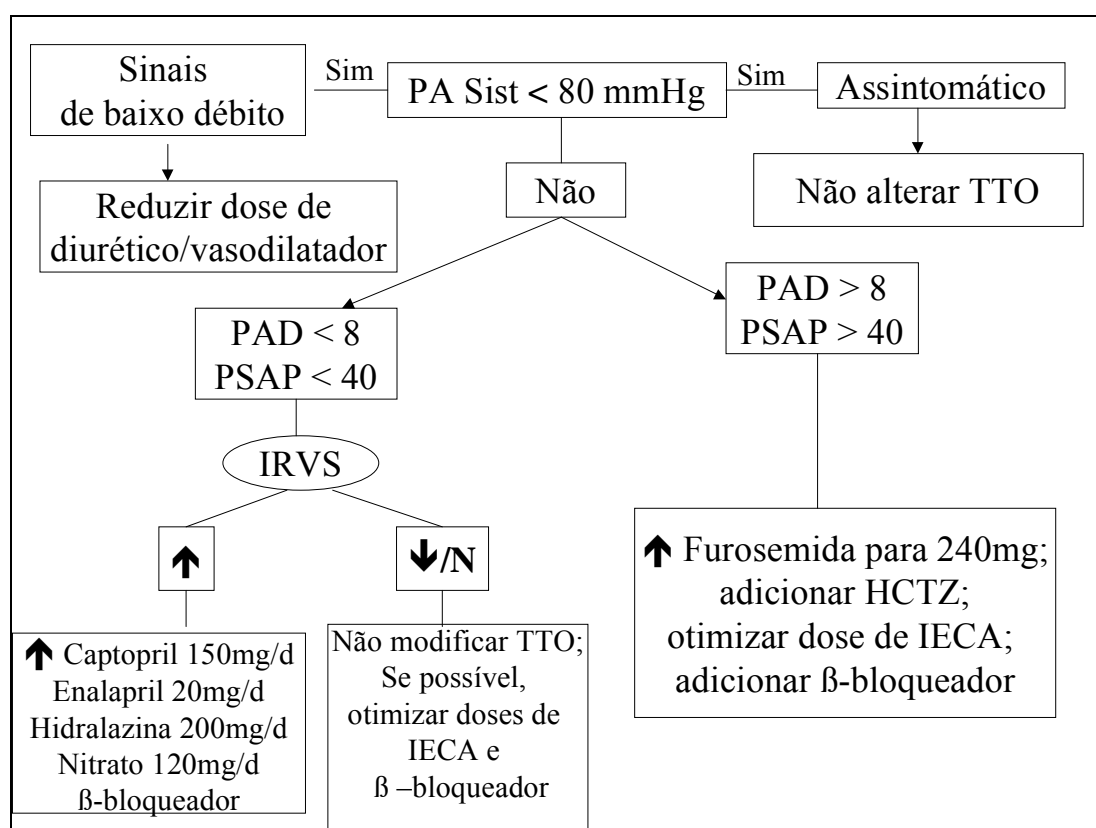


Figura 1- Delineamento do estudo.

Estratégia orientada pela ecocardiografia.

O ecocardiograma basal foi realizado dentro de 5 dias após a randomização. Os ecocardiogramas, com efeito *Doppler* bidimensional e em modo M, foram realizados por um cardiologista experiente usando um equipamento de ultra-som comercial (ATL HDI 5000 Bothel. WA, EUA). Os parâmetros ecocardiográficos foram obtidos seguindo recomendações padronizadas da American Society of Echocardiography (17). Para cada medida, 3 a 5 ciclos cardíacos consecutivos foram obtidos, e suas médias, calculadas. Os parâmetros hemodinâmicos foram determinados através de protocolos anteriormente validados (18, 19). Os dados hemodinâmicos obtidos pela ecocardiografia nos pacientes do grupo ECO foram fornecidos ao cardiologista durante a consulta, e, juntamente com avaliação clínica, guiaram as decisões terapêuticas conforme um protocolo previamente elaborado (Figura 2).



PA Sist: pressão arterial sistólica; PAD: pressão atrial direita; PSAP: pressão sistólica de artéria pulmonar; IRVS: índice de resistência vascular sistêmica; tto: tratamento; N: normal; IECA: inibidor da enzima conversora de angiotensina; HCTZ: hidroclorotiazida; β-bloqueador: beta-bloqueador.

Figura 2 - Algoritmo de manejo para pacientes do grupo ECO.

O protocolo detalhado visou um perfil hemodinâmico próximo daquele buscado por Stevenson e col. (16), no qual o manejo de pacientes com insuficiência cardíaca foi realizado a partir de parâmetros obtidos por cateterismo cardíaco direito. Em resumo: 1) se a pressão arterial estivesse abaixo de 80 mmHg e o paciente estivesse assintomático, a conduta era mantida; 2) se um débito cardíaco baixo ficasse evidente em repouso, fazia-se uma redução de vasodilatadores e/ou diuréticos, sendo a hospitalização recomendada quando necessário; 3) se a pressão de átrio direita fosse inferior a 8 mmHg e a pressão sistólica de ventrículo direito, inferior a 40 mmHg, na presença de um valor de resistência vascular sistêmica maior que $1800 \text{ dinas.seg/cm}^5$, buscavam-se doses aumentadas de captopril ou enalapril, visando uma dosagem ótima (150 ou 20 mg/dia, respectivamente) – se necessário, hidralazina e nitratos poderiam ser adicionados para se alcançarem valores de resistência vascular próximos da normalidade; 4) se o índice de resistência vascular sistêmica fosse inferior a $1800 \text{ dinas.seg/cm}^5$ na presença baixas pressões em cavidades direitas, a conduta era mantida; 5) se a pressão sistólica ventricular direita ou atrial direita fosse igual ou maior que 40 mmHg e 8 mmHg, respectivamente, a dose de furosemida era aumentada (até 240 mg/ dia) com ou sem adição de hidroclorotiazida (25 mg/ dia), e a dose de inibidores da enzima de conversão da angiotensina também era elevada para a dose-alvo.

Estratégia orientada clinicamente.

As decisões terapêuticas nos pacientes designados para o tratamento convencional (CLÍNICO) foram baseadas em recomendações de diretrizes clínicas (15, 20, 21). Além do aconselhamento farmacológico padrão, o uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina e de beta-bloqueadores em doses otimizadas foram recomendados para todos os pacientes. A terapia com diuréticos foi exclusivamente baseada na presença e na intensidade dos achados clínicos sugestivos de congestão pulmonar e/ou sistêmica.

Definição dos objetivos e desfechos do estudo.

O objetivo principal do estudo foi estabelecer se a obtenção de um perfil hemodinâmico mais adequado em pacientes com insuficiência cardíaca crônica estava associada a um menor grau de processo de remodelamento conforme avaliado por níveis de diferentes marcadores biológicos. O desfecho principal do estudo foi a comparação das duas estratégias de tratamento em relação aos níveis de TNF- α , PIIINP e MMP-1.

Coleta de sangue e determinação dos marcadores biológicos.

Na avaliação basal e novamente na visita final (seguimento ambulatorial de 6 meses), amostras de 10 mL de sangue dos paciente foram coletadas em tubos de soro (5 mL). O material foi imediatamente centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos; o soro obtido foi armazenado a -70°C para análise combinada posterior.

Método de ELISA. Testes de ELISA comerciais foram usados para dosagem de TNF- α (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA) e para determinação dos níveis de MMP-1 (Amersham Pharmacia Biotch, Piscataway, EUA); amostras em duplicata foram usadas para minimizar a variabilidade inter-ensaio. Os limites inferiores de sensibilidade para a detecção dos níveis de TNF- α e de MMP-1 foram de 0,12 pg/mL e 1,7 ng/mL, respectivamente. No método de ELISA, as substâncias a serem analisadas, presentes na amostra de soro, reagem com um anticorpo específico fixado à parede da placa de reação e com um outro anticorpo marcado com o conjugado, formando um complexo de ligação. Após, o excesso de anticorpos é removido por lavagem e a coloração, formada após a adição do reagente de cor, é quantificada, sendo a leitura ótica proporcional à concentração da substância analisada. A partir dos resultados obtidos, foi construída uma curva de calibração, e as concentrações conhecidas finais foram determinadas utilizando-se uma equação polinomial. Todas as dosagens foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Cardiovascular do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob mascaramento, isto é, sem conhecimento da identidade das amostras ou de sua origem.

Método de Radioimunoensaio. A dosagem do PIIINP foi realizada por radioimunoensaio com teste de diagnóstico comercial (Orion Diagnostica, Espoo, Finlândia), sendo o mesmo sensível para níveis iguais ou superiores a 0,2 pg/mL. A amostra de soro contendo PIIINP foi misturada a um reagente contendo anticorpos específicos, com maior afinidade pelo colágeno, marcados com iodo radioativos. O complexo antígeno-anticorpo formado na mistura é constituído, em sua maior parte, pelo antígeno radioativo. O antígeno em excesso foi eliminado pela lavagem do tubo e a radioatividade residual foi contada no equipamento Cobra AutoGamma (Packard, New York, EUA), durante 1 minuto. A partir de resultados obtidos com seis soros calibradores, analisados juntamente com as amostras dos pacientes, foi gerada uma curva de calibração, e os dados foram *plotados* em papel *semi-log*. Deste modo, as leituras obtidas nas análises foram convertidas em concentrações conhecidas. Todas as dosagens foram realizadas em duplicata, com o objetivo de diminuir a variabilidade do método, e executadas na Unidade de Radioimunoensaio do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob mascaramento, isto é, sem conhecimento da identidade das amostras ou de sua origem.

Análise estatística.

A análise dos dados deste estudo constituiu-se de 1) análise descritiva das variáveis - as variáveis contínuas estão descritas em média \pm desvio-padrão, enquanto que variáveis categóricas, em frequências absoluta e percentual; 2) estudo da associação entre variáveis ecocardiográficas e níveis de marcadores biológicos, ambos obtidos no momento basal; 3) estudo comparativo do comportamento das variáveis tanto ecocardiográficas como dos marcadores biológicos, do momento basal em relação ao final do estudo (6 meses); 4) estudo do valor preditivo dos níveis dos marcadores biológicos basais para a resposta hemodinâmica observada ao final do estudo; e 5) análise do comportamento dos marcadores biológicos nos dois grupos estudados. Comparações dos dados entre os grupos CLÍNICO e ECO, nos momentos basal e final, foram inicialmente, realizadas utilizando o teste *t* para amostras pareadas e, posteriormente, teste *t* para amostra independentes, então, comparando-se os valores finais das variáveis. As análises de uso de medicações foram realizadas com o testes de

qui-quadrado, Fisher e McNemar. A correlação de Spearman foi utilizada para verificar associações entre as variáveis biológicas e os valores de pressões de enchimento cuja distribuição era assimétrica.

Para estudar a associação entre a combinação de parâmetros biológicos e o perfil hemodinâmico, foi construído um escore utilizando os níveis basais dos marcadores biológicos agrupados, sem diferenciação entre os grupos de tratamento, com ponto de corte no percentil 75 para cada um dos marcadores. Foram atribuídos valores de 0 a 2 para o escore conforme o número de parâmetros concordantes para cada paciente. Dessa forma, pacientes com 2 ou 3 marcadores biológicos basais com valores iguais ou acima do percentil 75 recebiam escore 2; com um marcador, escore 1; e com nenhum marcador, escore 0. As categorias do escore foram então comparadas em relação aos valores finais de pressão atrial direita e de pressão sistólica da artéria pulmonar, utilizando-se para isso os testes de ANOVA e de Student-Newman-Keuls. Os dados foram tabulados em planilha do programa Excel 4.0 e analisados no *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 12.0. O nível de significância estabelecido foi de 0,05.

Resultados

Características dos pacientes.

De março de 2000 a outubro de 2003, 80 pacientes ambulatoriais com insuficiência cardíaca que concordaram em participar do protocolo de estudo foram selecionados, incluídos e acompanhados por um período de 6 meses; 40 pacientes foram aleatoriamente alocados para o grupo CLÍNICO e 40, para o grupo ECO. A população estudada incluiu predominantemente homens com etiologia isquêmica e não-isquêmica, predominantemente pertencendo às classes funcionais I e II da NYHA (70%). Não houve diferença significativa nas características clínicas basais entre os dois grupos de tratamento (Tabela 1). Os pacientes foram tratados de acordo com recomendações padronizadas e protocolos descritos anteriormente, sendo que quase a totalidade recebeu inibidores da enzima de conversão da angiotensina e diuréticos. Os beta-bloqueadores foram utilizados por aproximadamente 50% dos pacientes. Conforme esperado, a

população estudada apresentava dimensões do ventrículo esquerdo aumentadas (diâmetro diastólico de $6,9 \pm 0,9$ cm) e função sistólica do ventrículo esquerdo marcadamente diminuída (fração de ejeção de 26 ± 7 %). As pressões de enchimento de cavidades direitas e esquerdas eram elevadas, assim como a resistência vascular sistêmica, enquanto que o índice cardíaco era reduzido. Não houve diferença significativa entre os grupos com relação aos dados ecocardiográficos basais. Os parâmetros hemodinâmicos derivados do ecocardiograma estão descritos na Tabela 2. No final do estudo, 27 eventos clínicos relevantes (morte, hospitalização ou visita à emergência) tinham ocorrido, de modo que 53 pacientes retornaram para a coleta final da amostra de sangue.

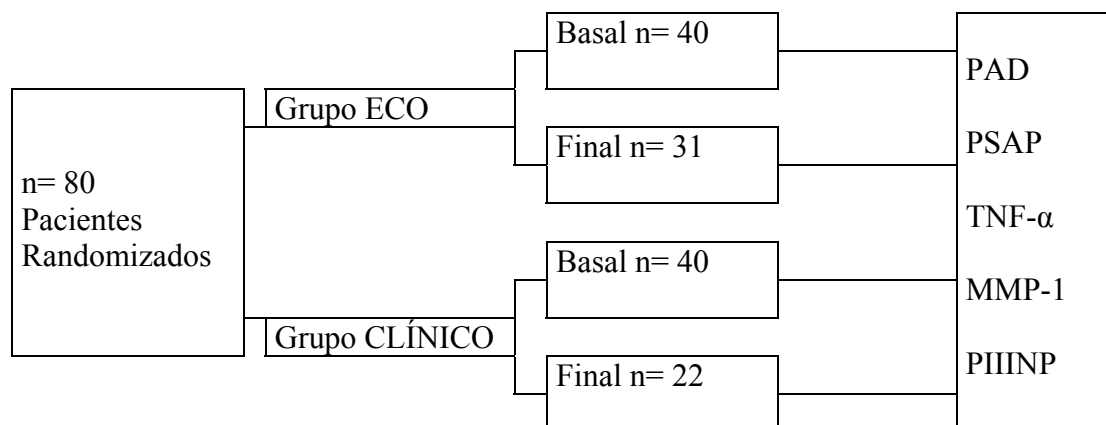


Figura 3 - Fluxograma do estudo.

Tabela 1 – Características clínicas basais

Características	Grupo CLÍNICO n = 40	Grupo ECO n = 40	p
Idade (anos)	62 ± 15	57 ± 15	0,88
Sexo (M/F), n	29/ 11	23/ 17	0,52
Etiologia da IC, n (%)			
Isquêmica	19 (47)	21 (52)	0,80
Não-isquêmica	21 (52)	19 (47)	0,72
Classe Funcional (NYHA), n (%)			
I	12 (30)	18 (45)	0,26
II	16 (40)	10 (25)	0,32
III	8 (20)	10 (25)	0,31
IV	4 (10)	2 (5)	0,28

Grupo CLÍNICO: orientado por parâmetros clínicos convencionais; Grupo ECO: orientado por parâmetros hemodinâmicos ecocardiográficos; M: masculino; F: feminino; NYHA: New York Heart Association; IC: insuficiência cardíaca. Os dados estão expressos como média ± desvio-padrão, exceto quando indicado.

Tabela 2 – Características ecocardiográficas basais

Características	Grupo CLÍNICO n = 40	Grupo ECO n = 40	p
Fração de ejeção (%)	26 ± 8	27 ± 8	0,78
Diâmetros de ventrículo esquerdo			
Sistólico final (mm)	59 ± 10	59 ± 8	0,92
Diastólico final (mm)	68 ± 9	68 ± 8	0,91
Pressões			
Átrio direito (mmHg)	11 ± 6	10 ± 5	0,79
Sistólica de artéria pulmonar (mmHg)	45 ± 14	48 ± 13	0,27

Grupo CLÍNICO: orientado por parâmetros clínicos convencionais; Grupo ECO: orientado por parâmetros hemodinâmicos ecocardiográficos. As variáveis estão expressas em média ± desvio-padrão.

Níveis de TNF- α .

A concentração sérica do TNF- α apresentou distribuição normal. Níveis basais deste marcador foram semelhantes nos dois grupos estudados. Em ambos os grupos de

tratamento, houve queda significativa, e de magnitude semelhante, dos níveis de TNF- α ao se comparar os momentos basal e final do estudo. Portanto, ao final do estudo, os níveis de TNF- α nos dois momentos do protocolo foram comparáveis nos dois grupos estudados ($p = 0,77$) (Tabela 3).

Níveis de MMP-1.

A concentração sérica de MMP-1 também apresentou distribuição normal. Os níveis basais e finais deste mediador foram semelhantes nos grupos de tratamento, e, em ambos, houve queda significativa e de magnitude comparável ao final do seguimento ($p = 0,88$) (Tabela 3).

Níveis de PIIINP.

Assim como TNF- α e MMP-1, PIIINP apresentou distribuição normal. Os níveis basais deste marcador foram semelhantes nos grupos estudados, e, em ambos, houve queda significativa e de magnitude comparável dos níveis circulantes ao final de 6 meses. Níveis finais de PIIINP foram similares nos dois grupos estudados ($p = 0,19$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Níveis dos marcadores biológicos

Variáveis	Grupo CLÍNICO		p	Grupo ECO		p	p*
	Basal	Final		Basal	Final		
	n = 40	n = 27		n = 40	n = 23		
MMP-1 (ng/mL)	2,66 \pm 1,00	1,16 \pm 0,40	0,0001	2,50 \pm 0,90	1,09 \pm 0,40	0,0001	0,88
PIIINP (μ g/L)	6,12 \pm 2,60	3,89 \pm 1,60	0,0001	6,09 \pm 2,60	3,50 \pm 1,30	0,0001	0,19
TNF- α (pg/mL)	3,11 \pm 2,90	1,24 \pm 0,60	0,0003	3,90 \pm 4,90	1,40 \pm 1,30	0,0001	0,77

MMP-1: metaloproteinase de matriz extracelular do tipo 1; PIIINP: N-peptídeo do pró-colágeno tipo III; TNF- α : fator de necrose tumoral- α ; p: para comparação dos valores entre marcadores biológicos nos momentos basal e final; p*: para comparação de valores

finais entre grupos CLÍNICO e ECO. As concentrações de marcadores estão expressas em média \pm desvio- padrão.

Parâmetros hemodinâmicos.

Em ambos os grupos de tratamento, foram observadas modificações em parâmetros hemodinâmicos ao final do estudo nos pacientes que não apresentaram eventos clínicos. No grupo CLÍNICO, houve redução absoluta de 3 mmHg na pressão atrial direita e elevação absoluta de 3 mmHg na pressão sistólica da artéria pulmonar, ambas não-significativas. No grupo ECO, observou-se queda significativa nos valores da pressão sistólica da artéria pulmonar (9 mmHg; $p = 0,04$) e da pressão atrial direita (3 mmHg; $p = 0,001$) ao final do estudo (Figura 4).

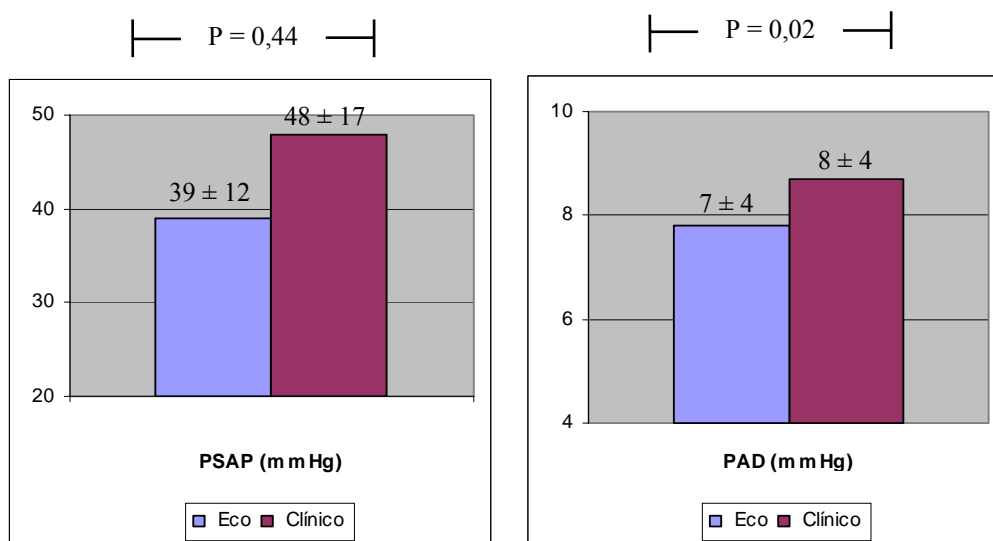


Figura 4. Valores finais de pressões sistólica da artéria pulmonar (PSAP) e atrial direita (PAD).

Frequências de uso das medicações.

Em ambos os grupos de tratamento, o padrão de uso de medicações obedeceu critérios gerais orientados por diretrizes. Em ambos os grupos CLÍNICO e ECO, houve tendência geral de tratamento mais intenso e completo ao final do estudo. No entanto no

grupo ECO, houve um número, proporcionalmente, quatro vezes maior de pacientes recebendo hidralazina comparativamente ao grupo CLÍNICO, ao final do estudo. Da mesma forma, tendências para maior uso de beta-bloqueadores e de doses mais elevadas de furosemida também foram observadas neste grupo.

Tabela 4 – Padrão de uso de medicações durante o estudo

Medicações	Grupo CLÍNICO			Grupo ECO			p*
	Basal n = 40	Final n = 22	p	Basal n = 40	Final n = 31	p	
Hidralazina	4 (10)	2 (9)	1,00	8 (20)	13 (42)	0,02	0,01
IECA	39 (97)	20 (91)	0,50	40 (100)	31 (100)	1,00	0,16
B-bloqueador	20 (50)	15 (68)	0,28	22 (55)	28 (90)	0,002	0,07
Furosemida	39 (97)	20 (91)	0,62	40 (100)	31 (100)	1,00	0,16
Dose elevada (≥ 200 mg/ dia)	0 (0)	0 (0)	1,00	7 (17)	6 (19)	0,72	0,07
Espironolactona	20 (50)	14 (63)	0,68	22 (55)	15(48)	1,00	0,40

IECA: inibidores da enzima conversora de angiotensina; B-bloqueador: beta-bloqueadores; p: comparação entre momentos basal e final de cada grupo; p*: comparação entre os momentos finais dos grupos. Frequências estão expressas como número (percentual).

Correlação entre marcadores biológicos e pressões de enchimento.

Analisando o grupo de pacientes como um todo, sem diferenciação entre grupos randomizados, não foram observadas correlações relevantes entre os níveis dos diferentes marcadores biológicos e os comportamentos da pressão sistólica da artéria pulmonar e da pressão atrial direita, tanto no início como no final do estudo. Além disto, os níveis dos marcadores biológicos basais, quando analisados individualmente, não foram capazes de predizer a resposta hemodinâmica observada ao final do estudo. As Tabelas 5 e 6 demonstram as correlações observadas.

Tabela 5 – Correlações entre níveis dos marcadores e pressão sistólica de artéria pulmonar

Variáveis	PSAP Basal (mmHg)	
	r	p
MMP-1 basal (ng/mL)	0,13	0,27
PIIINP basal (µg/L)	0,12	0,33
TNF-α basal (pg/mL)	0,16	0,19
Variáveis	PSAP Final (mmHg)	
	r	p
MMP-1 final (ng/mL)	0,32	0,04
PIIINP final (µg/L)	0,01	0,91
TNF-α final (pg/mL)	0,15	0,35

PSAP: pressão sistólica de artéria pulmonar; MMP-1: metaloproteinase de matriz extracelular do tipo 1; PIIINP: N-peptídeo do pró-colágeno tipo III; TNF-α: fator de necrose tumoral-α.

Tabela 6 – Correlações entre marcadores e pressão de átrio direito

Variáveis	PAD Basal (mmHg)	
	r	p
MMP-1 basal (ng/mL)	-0,03	0,78
PIIINP basal (µg/L)	0,35	0,001
TNF-α basal (pg/ml)	0,11	0,31
Variáveis	PAD Final (mmHg)	
	r	p
MMP-1 final (ng/mL)	0,06	0,65
PIIINP final (µg/L)	0,37	0,01
TNF-α final (pg/mL)	0,23	0,14

PAD: pressão de átrio direito; MMP-1: metaloproteinase de matriz extracelular do tipo 1; PIIINP: N-peptídeo do pró-colágeno tipo III; TNF-α: fator de necrose tumoral-α.

Desempenho do escore de marcadores biológicos combinados em relação às pressões finais de cavidades direitas.

A combinação dos valores basais das variáveis biológicas resultou em escore relativo ao percentil 75, variando de 0 a 2, conforme descrito anteriormente na análise estatística. A estratificação de todo o grupo de pacientes conforme estes escores agrupou 31 pacientes no escore 0, 40 no escore 1 e 9 no escore 2. Ao analisar o comportamento final das pressões sistólica de artéria pulmonar e atrial direita entre os diferentes estratos do escore de marcadores, foram observadas associações significativas. Especificamente, variáveis agrupadas no escore 2 foram preditivas de menor queda tanto na pressão sistólica da artéria pulmonar quanto na pressão atrial direita ao final do estudo (Tabela 7 e Figuras 5-6).

Tabela 7 – Associação das variáveis biológicas basais com pressões sistólica da artéria pulmonar e pressão atrial direita finais.

Escore	PAD final (mmHg)			PSAP final (mmHg)	
	n	Média	SNK	Média	SNK
0	31	8		41	
1	40	9		41	
2	9	13	**	60	**
ANOVA		p = 0,036		p = 0,008	

PAD: pressão de átrio direito; PSAP: pressão sistólica de artéria pulmonar; SNK: Teste de Student-Newman-Keuls; **: difere significativamente ($p < 0,05$) dos escores 0 e 1.

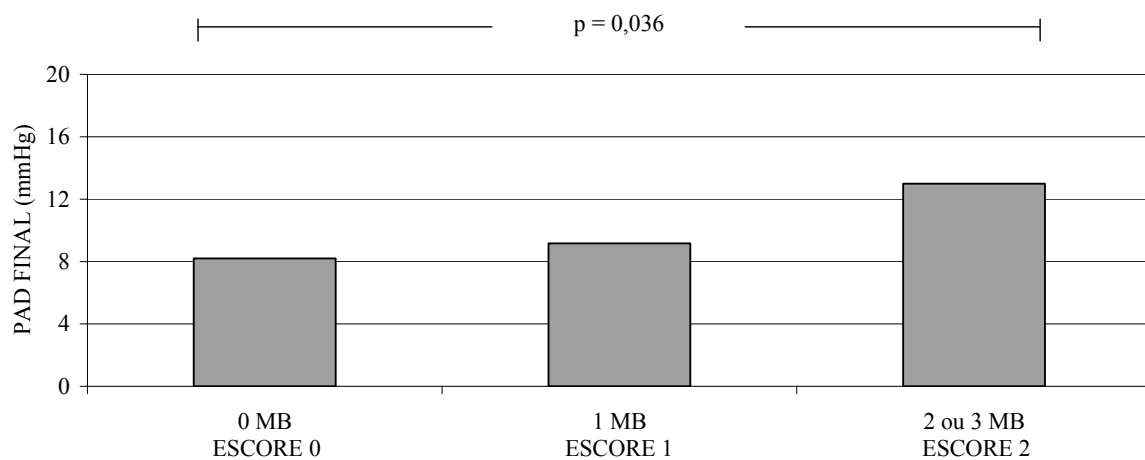


Figura 5 – Associação do escore de marcadores biológicos com pressão atrial direita (PAD).

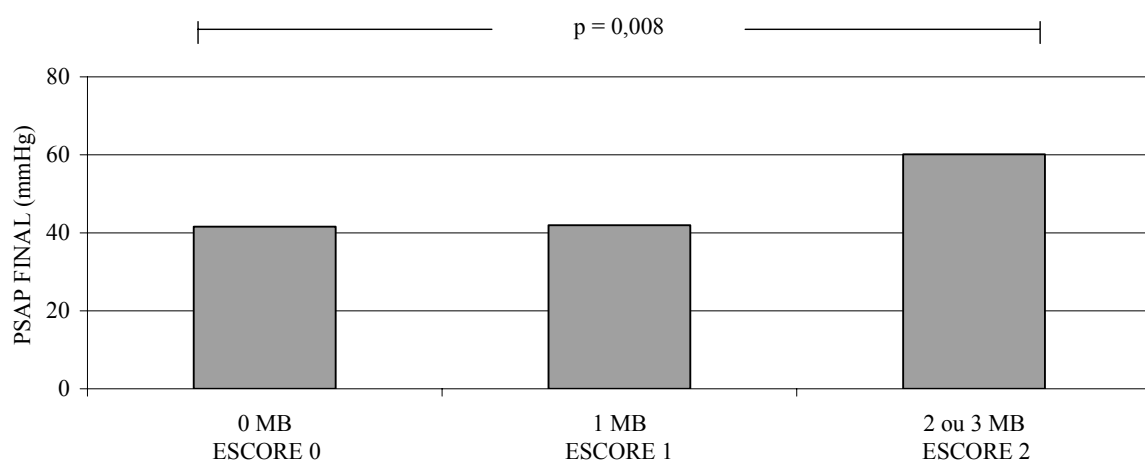


Figura 6 – Associação do escore de marcadores biológicos com pressão sistólica de artéria pulmonar (PSAP).

Discussão

O maior progresso no manejo da insuficiência cardíaca nas últimas duas décadas foi capitaneado pela busca de esquemas terapêuticos que contemplassem modular a progressão do remodelamento ventricular. O foco maior de atenção foi a utilização de inibidores da enzima de conversão da angiotensina e, mais recentemente, de beta-bloqueadores. Neste estudo, nós procuramos estudar o comportamento de marcadores biológicos circulantes do processo de remodelamento em pacientes com insuficiência cardíaca avançada, tratados conforme critérios clínicos seguindo diretrizes atuais comparando-os àqueles tratados conforme parâmetros hemodinâmicos obtidos por ecocardiogramas seriados, em adição ao seguimento de diretrizes. Nós observamos que ambas as estratégias reduzem os níveis dos mediadores biológicos e que uma combinação de níveis mais elevados iniciais destes marcadores podem indicar menor resposta hemodinâmica.

O processo de remodelamento com progressiva dilatação ventricular corresponde à base anatomo-funcional da progressão da insuficiência cardíaca, indicando, de certa forma, o perfil de gravidade dos pacientes. O perfil clínico de pacientes incluídos neste estudo é compatível com quadros avançados de insuficiência cardíaca, embora, funcionalmente, a maioria se enquadrasse nas classes I e II da NYHA. Neste sentido, a fração de ejeção marcadamente reduzida e os diâmetros ventriculares bastante aumentados atestam claramente a progressão da doença; ambos parâmetros são marcadores independentes de pior prognóstico (22, 23).

A interação íntima entre mediadores inflamatórios, proteínas da matriz extracelular e enzimas da família das metaloproteinases estabelece um ciclo de mecanismos que leva a mudanças estruturais na geometria ventricular e conseqüente comprometimento funcional do coração (24). As diferentes vias de ativação deste ciclo ainda permanecem objeto de intensa investigação. Há dados apontando que a análise de mediadores biológicos que sustentam a progressão da doença poderiam também servir de marcadores ou indicadores de mau prognóstico. De fato, Klappacher e colaboradores, monitorizaram níveis de PIIINP em pacientes com miocardiopatia dilatada e demonstraram correlações entre níveis deste mediador e severidade da doença, grau de

comprometimento hemodinâmico, hiponatremia e necessidade de transplante cardíaco (12).

O nosso grupo já tem abordado aspectos específicos deste processo, estudando a ativação inflamatória na insuficiência cardíaca. Em pacientes com doença avançada, nós demonstramos que níveis séricos de TNF- α encontram-se elevados, tanto em amostras de origem periférica como do seio coronário, em relação a indivíduos controles, indicando diferentes fontes para produção desta citocina na insuficiência cardíaca (25). No presente estudo, níveis de TNF- α estiveram igualmente elevados no momento basal em ambos os grupos de tratamento e em ambos houve queda significativa ao final de 6 meses de acompanhamento. Outros autores também demonstraram variação temporal de níveis de TNF- α em pacientes com insuficiência cardíaca, assim como diminuição de níveis de outras citocinas com o uso de beta-bloqueadores (26, 27). Portanto, nossas observações podem simplesmente refletir uma diminuição da atividade inflamatória associada a um mais rígido controle clínico de pacientes que vinham de quadros de descompensação da insuficiência cardíaca, caracterizados por visita à emergência ou hospitalização.

Se por um lado atividade inflamatória pode por si só indicar ativação no processo de remodelamento, evidências têm apontado um elo comum neste processo que seria a sinalização positiva exercida por citocinas no sentido de ativar metaloproteinases, que por sua vez degradariam diferentes componentes da matriz extra-celular; adicionalmente, o bloqueio de TNF- α em modelo experimental de insuficiência cardíaca proporcionou a diminuição da ação de metaloproteinases de matriz (28). Vários estudos têm apontado que níveis elevados circulantes e no tecido miocárdio de diferentes metaloproteinases são encontrados no período pós-infarto e também na miocardiopatia dilatada, invariavelmente refletindo maiores graus de dilatação ventricular (29, 30). Por outro lado, um estudo elegante de Rohde e colaboradores demonstrou que a inibição de metaloproteinases em modelos de ratos pós-infarto agudo do miocárdio se associou à diminuição da dilatação ventricular (9). Nosso estudo confirmou níveis elevados de MMP-1 em pacientes com insuficiência cardíaca. Ao final de 6 meses, observou-se redução significativa e semelhante em ambos os grupos de pacientes. Já no estudo de Zannad e colaboradores, os níveis basais de MMP-1 foram 70% menores do que os nossos e ao final de 6 meses os valores não se

modificaram (13). Talvez esta discrepância possa ser em parte explicada pelas diferenças observadas nos níveis basais (maiores no nosso estudo), talvez permitindo uma maior amplitude para reduções ocorrerem, particularmente sob um esquema terapêutico mais completo, especialmente considerando que angiotensina II e ativação adrenérgica são conhecidos ativadores de metaloproteinases no contexto do remodelamento ventricular (31).

Níveis elevados de pró-colágeno indicam atividade elevada de reparo cicatricial envolvendo a matriz extra-celular, o que no contexto miocárdico equivaleria a mudanças de conformação e estrutura do arcabouço de colágeno, propiciando maior potencial para dilatação e disfunção ventriculares (6). Em um estudo pós-infarto agudo do miocárdio, Modena e colaboradores demonstraram que níveis precocemente mais elevados de PIIINP foram indicativos de piora da capacidade funcional e de maior dilatação ventricular em 6 meses (32). Por outro lado, níveis basais mais elevados de PIIINP (ponto de corte em 3,85 µg/L), num sub-estudo do ensaio clínico RALES, foram preditivos de melhor resposta ao uso de espironolactona (13). Este achado pode indicar que quanto maior o grau de *turnover* e do metabolismo da matriz extracelular, maior a chance de uma medicação que diminua a ação de rotas pró-depósito de fibrose (sistema renina-angiotensina-aldosterona, por exemplo) trazer efeitos benéficos. Os níveis basais de PIIINP observados no presente estudo foram aproximadamente 20% mais elevados daqueles observados por Zannad e colaboradores, no entanto em 6 meses estes autores demonstraram quedas discretas nestes valores (inferiores a 20%), embora significativamente maiores no grupo que recebeu espironolactona. Em nosso estudo, ambos os grupos apresentaram quedas significativas, na ordem de 40%, dos níveis de PIIINP. Embora não se tenha sido possível discriminar níveis de PIIINP com maior impacto prognóstico, deve-se salientar que os nossos pacientes fizeram uso marcado de beta-bloqueadores, fármacos com conhecido potencial anti-remodelamento, achado que diferencia nosso grupo de pacientes de maneira definitiva do estudo RALES, onde apenas 5% da amostra recebeu beta-bloqueadores.

Neste estudo, embora as estratégias para guiar o manejo terapêutico fossem distintas entre os dois grupos estudados, todos os pacientes receberam como base uma abordagem contemporânea para o tratamento de insuficiência cardíaca, observando as recomendações de diretrizes atuais. Beta-bloqueadores, inibidores da enzima de

conversão da angiotensina e espironolactona foram utilizados de maneira similar em todos os pacientes. Sabidamente, estes três fármacos interferem de maneira significativa no remodelamento ventricular; de fato, boa parte, senão todo o efeito benéfico em sobrevivência observado com esta tríade tem sido atribuído aos seus efeitos anti-remodelamento exercidos através de vias distintas e até certo ponto complementares (33). No presente estudo, nós observamos uma queda significativa nos três marcadores estudados ao final do protocolo. Isto pode talvez sugerir que o uso continuado e sustentado das múltiplas drogas anti-remodelamento empregadas na insuficiência cardíaca, pode, de fato, atenuar a ativação do processo, atuando de forma similar em mecanismos potencialmente interligados.

Finalmente, nosso estudo procurou abordar um elemento adicional no processo de remodelamento ventricular, conhecido como estresse parietal. Alguns autores sugerem que o estresse parietal seria parte crucial para o desencadeamento do processo e também para sua perpetuação, uma vez que o remodelamento refletiria uma interação complexa de vários fatores, biológicos e mecânicos, contribuindo para a progressão da dilatação ventricular (34). Corroborando este conceito de maneira elegante, Li e colaboradores demonstraram que o uso de suporte artificial mecânico ao coração, portanto, aliviando o estresse parietal, levou à diminuição da expressão tecidual miocárdica de metaloproteinases e de produtos do colágeno em pacientes com insuficiência cardíaca grave (7). Clinicamente, a manutenção de pressões de enchimento elevadas equivale a manter estresse parietal aumentado. Mais ainda, estados congestivos (expressão clínica de pressões de enchimento elevadas) associam-se a maior limitação funcional e piores combinações de desfechos clínicos (35). Portanto, estratégias objetivando redução agressiva das pressões de enchimento, com alívio tanto da pré como da pós-carga, poderiam, de certa forma, refletir-se benéficamente no processo de remodelamento ventricular e na melhora de indicadores clínicos. Talvez em parte refletindo uma atuação mais marcada nestes aspectos hemodinâmicos, um estudo recente demonstrou que a associação de nitratos e hidralazina em negros com insuficiência cardíaca levou a uma melhora significativa de eventos combinados em relação ao tratamento-padrão incluindo inibidores da enzima de conversão da angiotensina e beta-bloqueadores (36). Nosso estudo, talvez de certa forma, explore este mecanismo uma vez que o grupo randomizado para tratamento guiado por ecocardiograma, em que parâmetros hemodinâmicos mais próximos do normal foram

buscados, um número maior de pacientes recebeu hidralazina como vasodilatador. Este grupo de pacientes atingiu ao final do estudo reduções significativas de pressão atrial direita e pressão sistólica da artéria pulmonar em comparação ao grupo sob tratamento clínico convencional. Por outro lado, analisando-se todos os pacientes, identificou-se um grupo em que reduções tanto da pressão atrial direita como da pressão sistólica da artéria pulmonar foram claramente mais limitadas: aqueles pacientes com um escore combinando valores basais mais elevados dos três mediadores biológicos finalizaram o estudo mantendo valores de pressões de enchimento sem modificações significativas.

Limitações do Estudo

Este é um estudo que levanta hipóteses. Múltiplos fatores biológicos e ambientais poderiam influenciar os níveis dos mediadores estudados. Por exemplo, atividade das metaloproteinases é em boa parte regulada pela ação dos seus inibidores correspondentes. Nós não mensuramos estes mediadores; o comportamento destes poderia colaborar para um entendimento mais amplo da atividade destas enzimas na insuficiência cardíaca. Nossas observações derivam de uma amostra limitada de pacientes. Estudos de maior porte são necessários para que dados mais definitivos sejam explorados.

Conclusões

Nosso estudo não identificou particularidades entre os três mediadores biológicos estudados no que se refere ao processo de remodelamento ventricular na insuficiência cardíaca, uma vez que estes mediadores apresentaram comportamentos semelhantes: níveis elevados no início do estudo com reduções significativas ao final de 6 meses, independentemente do grupo alocado. No entanto, o nosso parece ser o primeiro estudo que procurou explorar um potencial eixo mecanístico envolvendo forças mecânicas (pressões de enchimento), citocinas, metaloproteinases e produtos da síntese de matriz extracelular no contexto de tratamento da insuficiência cardíaca, não

só orientado por diretrizes, mas também abordando aspectos hemodinâmicos envolvidos no processo. Especificamente neste aspecto, nosso estudo pode estar trazendo uma contribuição inovadora: uma limitação em obter reduções significativas das pressões de enchimento foi observada naqueles pacientes que apresentavam escores compostos de níveis elevados dos três mediadores basalmente. Seria possível especular que, em pacientes apresentando este perfil de mediadores biológicos, estratégias terapêuticas diferenciadas deveriam ser empregadas, incluindo talvez no futuro o uso de bloqueadores específicos de metaloproteinases, por exemplo.

Referências Bibliográficas

1. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction – experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81:1161-72.
2. Stevenson LW, Tillisch JH, Hamilton M, et al. Importance of hemodynamic response to therapy in predicting survival with ejection fraction \leq 20% secondary to ischemic or nonischemic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1990; 66:1348-54.
3. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction- the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003; 107:1486-91.
4. Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Proinflammatory cytokines regulate tissue inhibitors of metalloproteinases and disintegrin metalloproteinase in cardiac cells. *Cardiovasc Res* 1999; 42:162-72.
5. Cohn J. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:569-82.
6. Weber K. Monitoring tissue repair and fibrosis from a distance. *Circulation* 1997; 96:2488-92.
7. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, et al. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* 2001; 104:1147-52.
8. Etoh T, Joffs C, Deschamps A, et al. Myocardial and interstitial matrix metalloproteinases activity after acute myocardial infarction in pigs. *Am J Physiol* 2001; 281:987-94.

9. Rohde LEP, Cheng C, Ridker S, et al. Echocardiographic-derived left ventricular end-systolic regional wall stress and matrix remodeling after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1999;33(3):835-42.
10. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, et al. Predischarge B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of re-admission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 18:635-41.
11. Jensen M, Horslev-Petersen K, Tolf P, et al. Serum aminoterminal type III procollagen peptide repair after acute myocardial infarction. *Circulation* 1990; 81:52-7.
12. Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995; 75(14):913-8.
13. Zannad F, Alla F, Dousset B, et al. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival of benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure - insights from the randomized aldactone evactone evaluation study (RALES). *Circulation* 2000; 102:2700-6.
14. Rohde LE, Furian T, Campos C, et al. Implications of the hemodynamic optimization approach guide by right heart catheterization in patients with severe heart failure. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78(3):261-6.
15. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Revisão da II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 2002; 79(supl. IV):1-30.
16. Stevenson LW, Perloff JK. The limited reliability of physical signs for estimating hemodynamics in chronic heart failure. *JAMA* 1989; 261:884-8.
17. Schiller NB. Two-dimensional echocardiographic determination of ventricular

volume, systolic function, and mass. Summary and discussion of the 1989 recommendations of the American Society of Echocardiography. *Circulation* 1991; 84:1280-7.

18. Rohde LE, Silva Neto LB, Goldraich L, et al. Reliability and prognostic value of traditional signs and symptoms in outpatients with congestive heart failure. *Can J Cardiol* 2004; 20:697-702.

19. Stein JH, Neumann A, Preston LM, et al. Echocardiography for hemodynamic assessment of patients with advanced heart failure and potential heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30:1765-72.

20. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2001. Available at: http://www.acc.org/clinical/guidelines/failure/hf_index.html Accessed on November 2004.

21. Remme WJ, Swedber K. Task force for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2001; 22:1527-60.

22. Gradman A, Deedwania P, Massie B, et al. Predictors of total mortality and sudden death in mild to moderate heart failure. Captopril-Digoxin Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14(3):564-70.

23. Komajda M, Jais JR, Reeves F, et al. Factors predicting mortality in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1990;11(9):824-31.

24. Siwik DA, Colucci WS. Regulation of matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:43-51.

25. Grossman G, Rohde LEP, Clausell, N. Evidence for increased peripheral production of tumor necrosis factor-alpha in advanced congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2001; 88:578-81.
26. Dibbs Z, Thornby J, White BG, et al. Natural variability of circulating levels of cytokines and cytokine receptors in patients with heart failure: implications for clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(7):1935-42.
27. Aronson D, Burger AJ. Effect of beta-blockade on autonomic modulation of heart rate and neurohormonal profile in decompensated heart failure. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2001; 6(2):98-106.
28. Bradham WS, Moe G, Wendt KA, et al. TNF- α and myocardial matrix metalloproteinases in heart failure: relationship to LV remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:1288-95.
29. Wang W, Schulze CS, Suarez-Pinzon WL, Dyck JRB, Sawicki G, Schulz R. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 2002; 106:1543-49.
30. Thomas CH, Coker ML, Zellner JL, et al. Increased matrix metalloproteinases activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1998; 97:1708-15.
31. Tsuruda T, Costello-Boerrigter LC, Burnett Jr JC. Matrix metalloproteinases: pathways of induction by bioactive molecules. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:53-61.
32. Modena MG, Mollinari R, Rossi R, et al. Modification in serum concentrations of aminoterminal propeptide of type III procollagen in patients with transmural myocardial infarction. *Am Heart J* 1998; 135:287-92.
33. Mehra MR, Uber PA, Francis GS. Heart failure therapy at a crossroad: are there

limits to the neurohormonal model? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(9):1606–10.

34. Janicki JS, Brower GL, Gardner JD, et al. The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodeling. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:33–42.

35. Lucas C, Johnson W, Hamilton MA, et al. Freedom from congestion predicts good survival despite previous class IV symptoms of heart failure. *Am Heart J* 2000; 140(6):824-6.

36. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004; 351:2049-57.

Artigo Original em Inglês

Excessive Activity of Ventricular Remodeling Signals Limited Therapeutic Response in the Aggressive Management of Advanced Heart Failure

Supported in part by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE-HCPA).

Abstract

Introduction: Levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), N-terminal propeptide of type III collagen (PIIINP) and type 1 matrix metalloproteinase (MMP-1), biological markers of ventricular remodeling, are elevated in heart failure (HF) patients, perhaps reflecting elevated filling pressures. The correlation of these markers with clinical and hemodynamic variables remains poorly understood, particularly in the outpatient setting.

Objective: To evaluate serum levels of ventricular remodeling biological markers in patients with HF, comparing a conventional clinically-oriented treatment (Conventional Therapy), based on clinical signs and symptoms, to an echocardiography-guided treatment (Echo-guided Therapy), aiming at a reduction in filling pressure levels.

Methods: Randomized trial. Stable patients with HF and ejection fraction lower than 40% were allocated to the treatment groups and submitted to echocardiography and blood sampling at the beginning of the study and after 180 days. TNF- α and MMP-1 were measured by ELISA, and PIIINP, by radioimmunoassay.

Results: Eighty patients at 59 ± 15 years and a mean ejection fraction of $26 \pm 7\%$ were included; 25% were ischemic and 52%, males. There was a reduction in intragroup biological markers, without difference between treatments. TNF- α , MMP-1 and PIIINP levels were statistically different between baseline and final in patients allocated to Conventional Therapy (respectively, 3.11 ± 2.90 versus 1.24 ± 0.60 pg/mL $p < 0.0003$; 2.66 ± 1.00 versus 1.16 ± 0.40 ng/mL $p < 0.0001$; 6.12 ± 2.60 versus 3.89 ± 1.60 μ g/L, $p < 0.0001$). Similarly, such a difference was also observed in the Echo-guided Therapy for the 3 markers (respectively, 3.90 ± 4.90 versus 1.40 ± 1.30 pg/mL $p < 0.0001$; 2.50 ± 0.90 versus 1.09 ± 0.40 ng/mL $p < 0.0001$; 6.09 ± 2.60 versus 3.50 ± 1.30 mg/L $p < 0.0001$). By the completion of the intervention, however, no significant difference was observed in the values of TNF- α , MMP-1 and PIIINP between the 2 treatment groups ($p = 0.7$; $p = 0.8$; and $p = 0.2$; respectively). A composite score incorporating baseline biological marker levels was statistically associated to final right-sided pressure levels (right atrial pressure and pulmonary artery systolic pressure). Patients with baseline biological marker levels over percentile 75 maintained higher right atrial (13 mmHg; $p = 0.034$) and pulmonary artery systolic pressures (60 mmHg; $p = 0.007$) at the end of protocol.

Conclusion: Regardless of allocated treatment group, biological marker levels were lower at the end of the follow-up; however, higher baseline levels of these markers were predictive of lower reductions in right atrial pressure and pulmonary artery systolic pressure. The data obtained suggest that indicators of an intense remodeling process are associated with elevated filling pressures and progression of HF.

Keywords: heart failure, tumor necrosis factor-alpha, collagen, matrix metalloproteinase, ventricular remodeling.

Introduction

Immunoinflammatory mechanisms are thought to play important roles in congestive heart failure (CHF) progression, contributing to left ventricular remodeling (1). At least three key elements are potentially involved in this process, possibly establishing a cascade pathway: inflammatory mediators (cytokines) contributing to inflammation-mediated activation of metalloproteinases which in turn lead to breakdown of extracellular matrix proteins, especially fibrillar collagen, contributing to accelerated matrix turnover and cardiac fibrosis (2,3,4).

Optimal cardiac performance is intrinsically related to adequate alignment of sarcomers, which in turn depend, of physiologic extracellular matrix function and proper cardiac muscle fiber structure (5). Following an index injury cardiac event, e.g. acute myocardial infarction, abrupt changes occur involving both the cardiac muscle and cardiac function (1). Activation of metalloproteinases lead to both loss of extracellular matrix structure and of cardiac architecture with subsequent further impairment of function (6,7,8). This in turn translates into adverse hemodynamic scenario characterized by increased pre and after load and parietal stress, which will further activate metalloproteinase activity and synthesis of inflammatory mediators (9). The net result of this active and self-perpetuating cycle is degradation of matrix components as well as matrix turnover further inducing left ventricle adverse remodeling with cardiac chamber enlargement (10).

Measurements of matrix balance have been conducted in clinical settings of acute myocardial infarction and of congestive heart failure (11,12). A sub-study of RALES showed that patients with heart failure featuring higher circulating levels markers of cardiac fibrosis, procollagen type amino-terminal I and III and procollagen type I carboxy-terminal, indicating high matrix turnover, had significantly better improvement in survival compared to patients with lesser degree of active fibrosis with the use of espironolactone. Espironolactone is thought to reduce fibrosis synthesis by blocking aldosterone effects at the tissue level (13).

Although tailored therapy during hospitalization aiming at lowering filling pressures is considered beneficial to reduce symptoms and improved event-free survival in heart failure

patients (14), the impact of more aggressive, hemodynamic-guided therapy at the outpatient setting, potentially reducing parietal stress, on the remodeling process remains largely unexplored. The objective of the present study was to provide a comprehensive view of the remodeling process in humans with chronic congestive heart failure measuring levels of three key components of the process: a pro-inflammatory cytokine, TNF- α , a metalloproteinase (MMP-1) and a matrix turnover product, N-terminal propeptide of type III collagen (PIIINP). The design of the present study was a randomized clinical trial which addressed whether a more intense treatment aiming at near normal hemodynamic profile guided by serially performed echocardiography in outpatients with heart failure was more effective than a clinically guideline-oriented protocol to reduce evidence of active myocardial remodeling.

Patients and Methods

Study design and studied population.

This was a prospective randomized trial comparing two different strategies for the management of stable heart failure outpatients: one strategy was guided by serially performed echocardiography aiming at tailoring a patient's hemodynamics and the other was a clinically guided therapy aiming at clinical improvement, according to guideline recommendations (15).

Patients with heart failure in NYHA functional classes II to IV, who had been discharged or had visited the emergency room because of heart failure decompensation within the last three months, were enrolled. Inclusion criteria also involved: history of heart failure being diagnosed in the last 6 months, regardless of etiology, ejection fraction equal to or less than 40%, and age of at least 18 years old. Exclusion criteria involved: significant motor disability, thoracic deformity or severe chronic lung disease imposing technical limitation to performing good quality echocardiography, acute coronary syndrome in the last three months, congenital heart disease, stenotic heart valve disease, prosthetic heart valves, chronic renal failure on dialysis program, acute myocarditis, or alcoholic cardiomyopathy.

Patients, attending physicians, independent statisticians and the echocardiographer were not blinded to group allocation, whereas the investigators who measured TNF- α , PIIINP and MMP-1 levels (main study outcomes) were unaware of group assignment. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and the research protocol was approved by the Ethics and Research Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. All patients gave their written informed consent prior to study enrolment.

Logistics and study procedures.

After the definition of eligibility, within a maximum of 7 days from recruitment, patients underwent a first screening echocardiogram to confirm echocardiographic criteria and acceptable technical conditions. Once these criteria were fulfilled, randomization was then performed according to the technique of alleatory numbers to allocate patients in one of two treatment strategies: 1) therapy guided according to echocardiogram-derived hemodynamic data aiming at tailoring a therapy according to Stevenson et al. ideal or normal-like profile (16) – Echo-guided Therapy; 2) therapy guided according to clinical assessment following guideline recommendations (15) – Conventional Therapy. Blood samples were taken at baseline and at the final of the study protocol to assess immunoinflammatory markers (TNF- α), levels of pro-collagen type III and metalloproteinase (MMP)-1, as detailed below. All patients were followed in the Outpatient Heart Failure Clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre by cardiologists with expertise in heart failure. Following the baseline visit, all patients were seen at 30, 60 and 180 days.

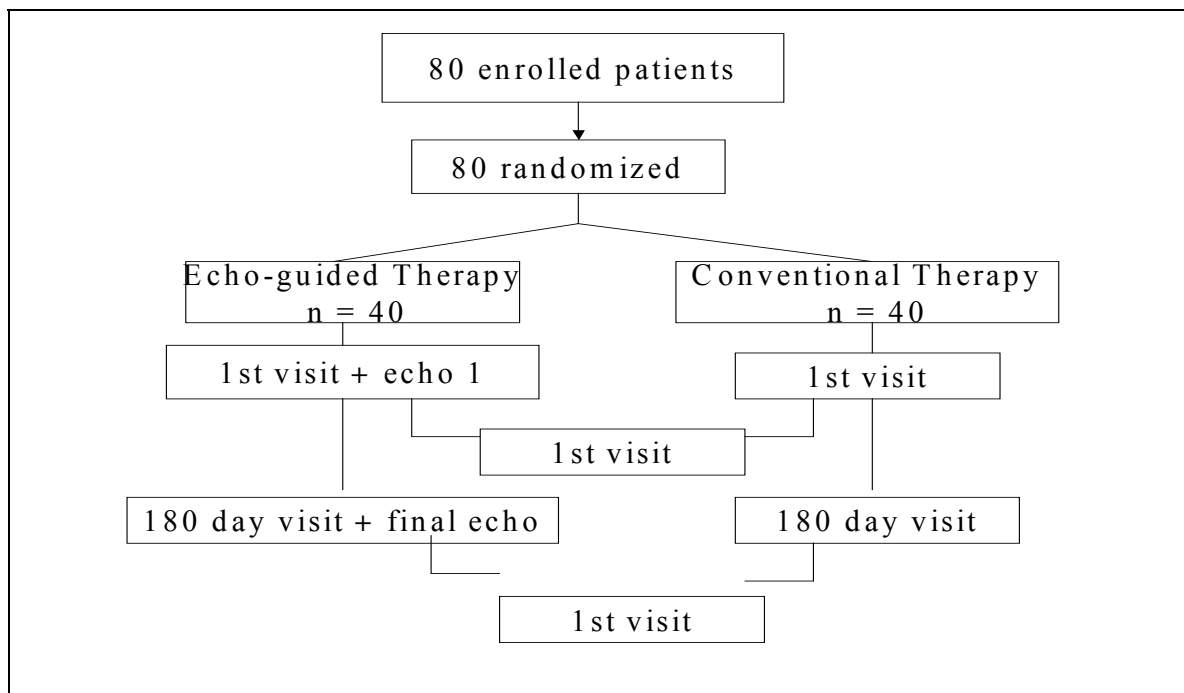
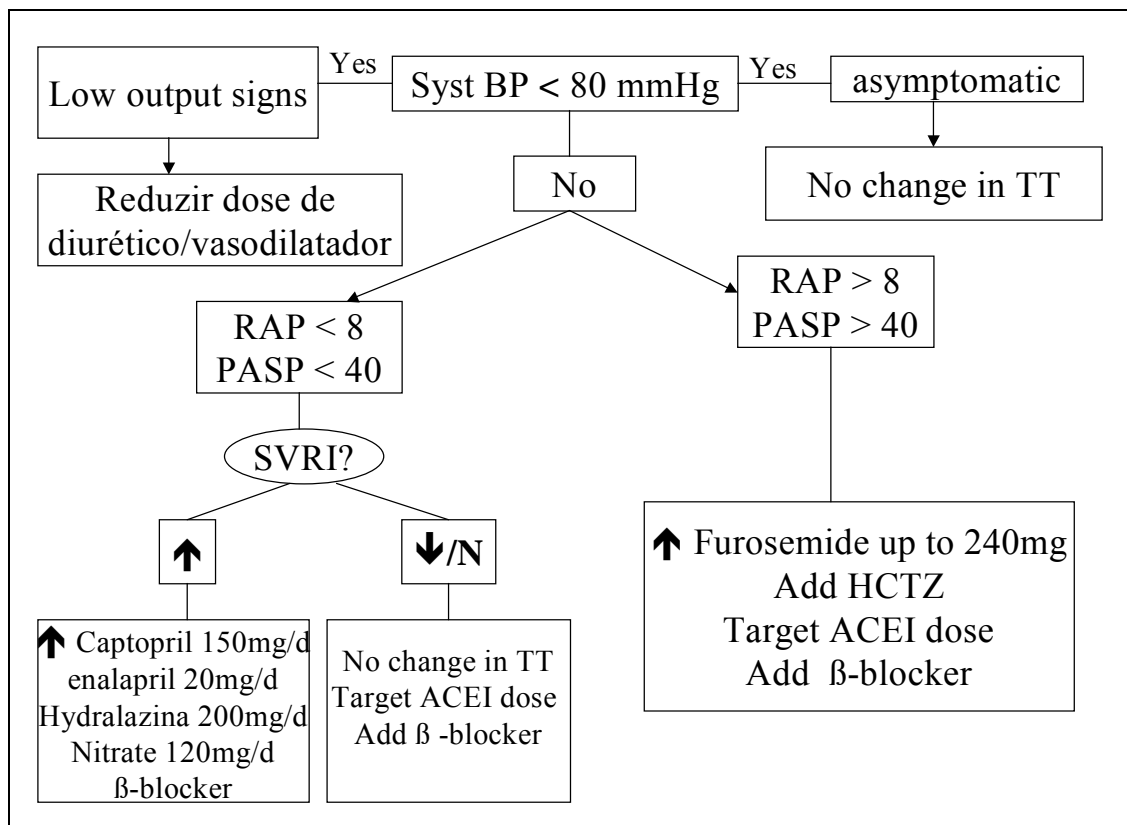


Figure 1. Study design.

Echocardiography-guided strategy.

Patients allocated to the echocardiography-guided therapy underwent sequential ultrasound examinations to evaluate hemodynamic-derived parameters. Baseline echocardiogram was performed within 5 days of randomization. M-mode and two-dimensional color Doppler echocardiography was performed by an experienced cardiologist using commercially available ultrasound equipment (ATL HDI 5000, Bothel, WA, USA). Echocardiographic parameters were evaluated according to standard recommendations of the American Society of Echocardiography (17). For each measurement, 3-5 consecutive cardiac cycles were measured and averaged. Hemodynamic parameters were determined according to previously validated protocols (18,19). All patients had echocardiograms performed at baseline and at the end of the study (180 days), but patients in the Echo-guided Therapy had additional echocardiography performed prior to each visit. (Figure 1). Complete hemodynamic parameters obtained from patients in the Echo-guided Therapy were provided to the heart failure cardiologist in order to, in addition to clinical assessment, guide therapeutic decisions according to a previously stipulated protocol. (Figure 2).



BP: blood pressure; RAP: right atrial pressure; PASP: pulmonary artery systolic pressure; SVRI: systemic vascular resistance index; N: normal; TT: treatment; HCTZ: hydrochlorothiazide; ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor; β -blocker: beta-blocker.

Figure 2. Treatment algorithm for patients in the ECHO group

The detailed protocol aimed at a hemodynamic profile close to that sought by Stevenson et al., when heart failure patients were managed according to parameters obtained by right-sided cardiac catheterization. In summary: 1) if blood pressure was lower than 80 mmHg with the patient being asymptomatic, no change in medications was made; 2) if low cardiac output was evident at rest, reduction of vasodilators or diuretics was performed as an outpatient measure, or hospitalization was recommended; 3) if right atrial pressure was lower than 8 mmHg and right ventricular systolic pressure lower than 40 mmHg in the presence of systemic vascular resistance value higher than 1800 dynes.sec/cm⁵, then increased doses of captopril or enalapril to reach optimal dosage (150 or 20 mg/day, respectively) were pursued – if needed, hydralazine and nitrates could be added to reach near normal vascular resistance values; 4) if the systemic vascular resistance index was lower than 1800 dynes.sec/cm⁵ in the presence of low right atrial and right ventricular systolic pressures, no changes in medications

were made; and 5) if right atrium and or right ventricular systolic pressure were equal to or higher than 8 mmHg and 40 mmHg, respectively, furosemide dose was increased (up to 240 mg/day) with or without adding 25-mg hydrochlorothiazide, and the ACE inhibitors dosage was also elevated to target dose.

Clinically guided strategy.

Therapeutic decisions for patients assigned to the Conventional Therapy were based on recommendations from clinical practice guidelines (15, 20, 21). Angiotensin converting enzyme inhibitors and beta-blockers use and optimization were encouraged for all patients, as well as standard non-pharmacological counseling. Diuretic therapy was exclusively based on the presence and intensity of clinical findings suggestive of pulmonary and/or systemic congestion. Clinically oriented patients also underwent a baseline and a final echocardiogram, but the decision-making team was unaware of this data throughout the protocol.

Definition of study objectives and outcomes.

The main objective of the study was to establish whether the achievement of a more suitable hemodynamic profile in patients with chronic heart failure was associated to a lesser degree of active remodeling process as assessed by levels of different biomarkers. The primary outcome of the study was a composite of levels of TNF- α , PIIINP and MMP-1 comparing the two treatment strategies. Measurement of plasma levels of different markers studied was carried out unaware of group allocation.

Blood sampling and measurement of biological markers.

At baseline assessment and again at the final protocol visit (6 months follow-up), 10-ml blood samples were collected from patients in EDTA-containing tubes. The material was

immediately centrifuged at 3.000 rpm during 20 min. The plasma obtained was stored at -70 °C for posterior combined analyses involving both time points.

ELISA. Commercially available ELISA assays were used to measure TNF- α (R & D Systems, Minneapolis, MN, USA) and to determine a degradation marker (total membrane metalloproteinase 1 [MMP1], (Amersham Pharmacia Biotch, Piscataway, USA). Using duplicate samples to minimize interassay variability. Lower detection limits of the TNF assay were typically less than 4.4 pg/mL and 1.7 ng/mL for MMP1. In the ELISA method, the substances to be analyzed, present in the sample, reacted to a specific antibody fixed to the plate wall and to another antibody marked with the conjugated, forming a binding complex between two substances. Subsequently, the excess of antibodies was washed out, and the stain formed after addition of the color reagent was quantified, the reading being proportional to the concentration of the substance analyzed. From the data collected, a calibration curve was generated and the data plotted on semilog paper. Thus, the readings obtained in the analyses were converted into known concentrations. All measurements were performed twice to decrease the variability of the method and carried out at the Cardiovascular Sciences laboratory of the HCPA Research Center by a blind method, that is, without knowing the identity of the samples or their origin.

Radioimmunoassay. The measurement of type III procollagen peptide was performed by radioimmunoassay with a commercial kit (Orion Diagnostic, Espoo, Finland). The sample containing PIIINP was mixed with a reagent containing specific antibodies marked with radioactive iodine with greater affinity for collagen. The antigen-antibody complex formed in the mixture is mostly constituted by the radioactive antigen. Excess antigen was eliminated by washing the tube and the residual radioactivity was gauged in the Cobra AutoGamma equipment (Packard) for one minute per tube. From the data obtained with 6 calibrating serums, analyzed along with the patients' samples, a calibration curve was generated and the data plotted on semi-log paper. Thus, the readings obtained in the analyses were converted into known concentrations. All measurements were performed in duplicate to decrease the variability of the method and were carried out at the Radioimmunoassay Unit of the HCPA Clinical Pathology Service by a blind method, that is, without knowing the identity of the samples or their origin. The sensitivity for PIIINP was as high as 0.2 μ g/L.

Statistical analysis.

The data analysis of this study comprised 1) a descriptive analysis of the variables – the continuous variables are described as mean \pm standard-deviation, while the categorical variables are described as absolute and percentage rates; 2) study of the association between echocardiographic variables and levels of biological markers, both achieved at the baseline; 3) comparative study of the behavior of both echocardiographic variables and biological markers, from the baseline to the end of the study (6 months); 4) study of the predictive value of the baseline levels of biological markers for the hemodynamic response observed at the end of the study; and 5) analysis of the behavior of biological markers in both studied groups. Comparisons of data between the Conventional and Echo-guided groups, at the baseline and the final, were initially carried out using the t test for paired samples, and later the t test for independent samples, then, the final values of the variables were compared. The analyses of the use of medications were performed with chi-square, Fisher and McNemar tests. The Spearman Correlation was used to verify associations between biological variables and filling pressure values whose distribution was asymmetric.

To study the association between the combination of biological parameters and hemodynamic profile, a score was developed using the baseline levels of the pooled biological markers, without differentiation between treatment groups, with a cut-off value at percentile 75 for each marker. Values from 0 to 2 were ascribed to the score according to the number of agreeing parameters for each patient. Thus, patients with 2 or 3 baseline biological markers with values equal to or above percentile 75 received score 2; with one marker, score 1; and with no marker, score 0. The score categories were then compared with the final values of right atrial pressure and pulmonary artery systolic pressure, using for this end ANOVA and Student-Newman-Keuls tests. The data were tabulated with the Excel 4.0 software and analyzed in the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 12.0. The significance level was set at 0.05.

Results

Patient characteristics.

From March 2000 to October 2003, 80 outpatients with heart failure that had signed an informed consent to participate in the study were included and followed for a 6-month period; 40 patients were randomly allocated to the Conventional Therapy and 40 to the Echo-guided Therapy. The population under study included mostly men with ischemic and non-ischemic etiology, belonging predominantly to NYHA functional classes I and II (70%). Baseline clinical characteristics were similar in both treatment groups (Table 1). Patients were managed according to previously described standard recommendations and protocols; almost all of them received diuretics and angiotensin-converting enzyme inhibitors. Beta-blockers were prescribed for approximately 50% of the patients. As expected, the studied population had increased left ventricular dimensions (diastolic diameter of 6.9 ± 0.9 cm) and markedly low left ventricular systolic function (ejection fraction of $26 \pm 7\%$). Both right-sided and left-sided filling pressures were elevated, as well as the systemic vascular resistance; cardiac index was reduced. Baseline echocardiography-derived hemodynamic data were similar in both groups (Table 2). By the end of the follow-up period, 27 relevant clinical events (death, hospitalization or visit to emergency room) had occurred; thus, 53 patients returned to final blood sampling (Figure 3).

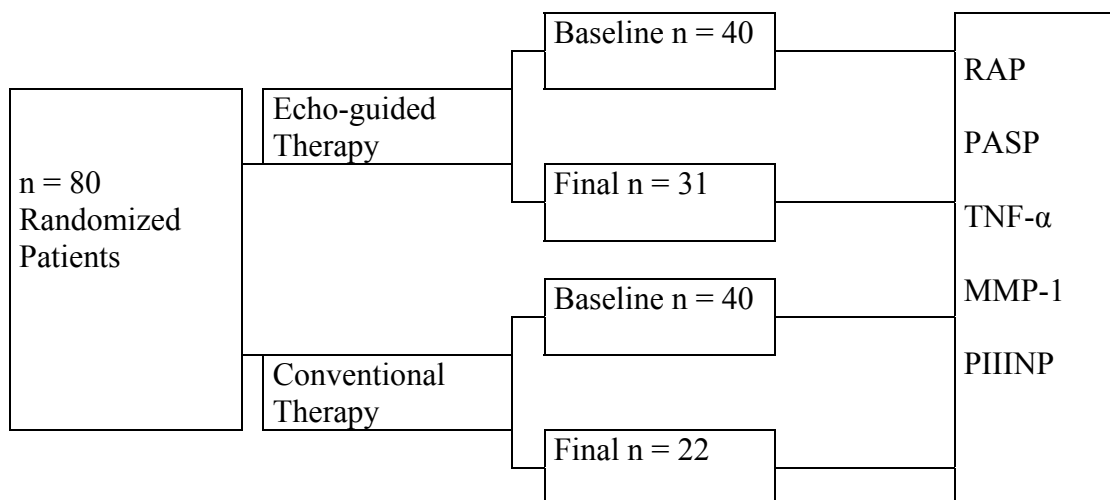


Figure 3 – Study flow diagram.

Table 2 – Baseline clinical characteristics.

Characteristics	Conventional Therapy n = 40	Echo-guided Therapy n = 40	p
Age (years)	62 ± 15	57 ± 15	0.88
Sex (M/F), n	29/ 11	23/ 17	0.52
HF etiology, n (%)			
Ischemic	19 (47)	21 (52)	0.80
Non-ischemic	21 (52)	19 (47)	0.72
Functional Class (NYHA), n (%)			
I	12 (30)	18 (45)	0.26
II	16 (40)	10 (25)	0.32
III	8 (20)	10 (25)	0.31
IV	4 (10)	2 (5)	0.28

Conventional Therapy: guided by conventional clinical parameters; Echo-guided Therapy: guided by echocardiography-derived hemodynamic parameters; M: male; F: female; NYHA: New York Heart Association; HF: heart failure. Unless noted, data are expressed as mean ± standard deviation.

Table 2 – Baseline echocardiographic characteristics.

Characteristics	Conventional Therapy n = 40	Echo-guided Therapy n = 40	p
Ejection fraction (%)	26 ± 8	27 ± 8	0.78
LV systolic diameter (mm)	59 ± 10	59 ± 8	0.92
LV diastolic diameter (mm)	68 ± 9	68 ± 8	0.91
Right atrial pressure (mmHg)	11 ± 6	10 ± 5	0.79
Pulmonary artery systolic pressure (mmHg)	45 ± 14	48 ± 13	0.27

Conventional Therapy: orientated by clinical conventional parameters; Echo-guided Therapy: orientated by echocardiographic hemodynamic parameters; LV: left ventricular. Unless noted, data are expressed as mean ± standard deviation.

TNF- α levels.

TNF- α serum levels demonstrated normal distribution. Baseline levels of this marker were statistically similar between the study groups. In both, there was a significant decrease in TNF- α levels when the baseline was compared with the final. Therefore, at the end of the study, the TNF- α levels at both moments of the protocol were comparable in the 2 study groups ($p = 0.77$) (Table 3).

MMP-1 levels.

MMP-1 serum concentration also demonstrated normal distribution. Baseline and final MMP-1 levels were similar in the study groups, and, in both, there was a significant reduction of comparable magnitude at the end of the follow-up ($p = 0.88$) (Table 3).

PIIINP levels.

Like TNF- α and MMP-1, PIIINP demonstrated normal distribution. The levels of this marker were similar in the groups studied, and in both there was a significant decline of comparable magnitude in the circulating levels at 6 months. The final PIIINP levels were similar in both groups studied ($p = 0.19$) (Table 3).

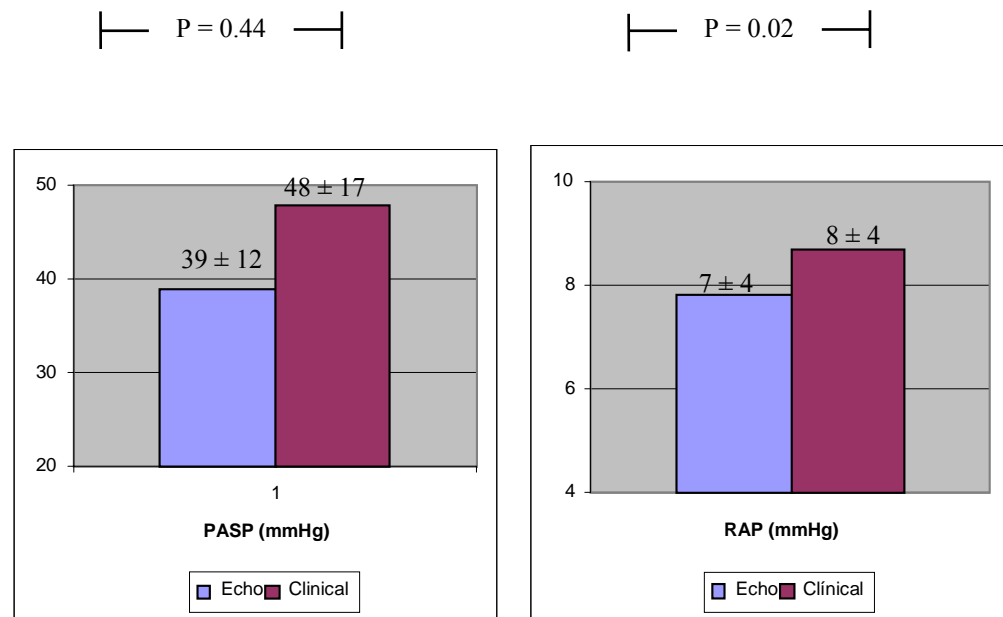
Table 3 – Biological marker levels.

Markers	Conventional Therapy		P	Echo-guided Therapy		P	p*
	Baseline	Final		Baseline	Final		
	n = 40	n = 27		n = 40	n = 23		
MMP-1 (ng/mL)	2.66 ± 1.00	1.16 ± 0.40	0.0001	2.50 ± 0.90	1.09 ± 0.40	0.0001	0.88
PIIINP (µg/L)	6.12 ± 2.60	3.89 ± 1.60	0.0001	6.09 ± 2.60	3.50 ± 1.30	0.0001	0.19
TNF-α (pg/mL)	3.11 ± 2.90	1.24 ± 0.60	0.0003	3.90 ± 4.90	1.40 ± 1.30	0.0001	0.77

MMP-1: type 1 matrix metalloproteinase; PIIINP: procollagen type III amino-terminal peptide; TNF-α: tumor necrosis factor-α; p: for comparison of values between biological markers at baseline and final; p*: for comparison of final values between the Conventional and Echo-guided groups. Marker levels are expressed as mean ± standard deviation.

Hemodynamic parameters.

In both treatment groups, changes in hemodynamic parameters were observed at the end of the study protocol in patients who hadn't had clinical events. In Conventional Therapy patients, right atrial pressure demonstrated an absolute decrease of 3 mmHg, while pulmonary artery systolic pressure was elevated by 3 mmHg; both differences were not statistically significant. In the Echo-guided Therapy, a significant decline was observed in the values of pulmonary artery systolic pressure (9 mmHg; p = 0.04) and right atrial pressure (3 mmHg; p = 0.001) at the end of the study. (Figure 4).



PASP: pulmonary artery systolic pressure; RAP: right atrial pressure; Echo: Echo-guided Therapy; Clinical: Conventional Therapy.

Figure 4. Right-sided pressure levels at the end of the study.

Drug use pattern.

In both treatment groups, the drug use pattern followed general criteria recommended by heart failure guidelines. In both Conventional Therapy and Echo-guided Therapy, there was a general tendency to more intense and complete treatment at the end of study. However, in the Echo-guided Therapy, the number of patients receiving hydralazine was 4 times as high as the Conventional Therapy, at the end of the study. Similarly, trends towards a greater use of beta-blockers and higher doses of furosemide were also observed in this group.

Table 4 – Drug use during the study protocol.

Drugs	Conventional Therapy			Echo-guided Therapy			
	Baseline n = 40	Final n = 22	p	Baseline n = 40	Final n = 31	P	p*
Hydralazine	4 (10)	2 (9)	1.00	8 (20)	13 (42)	0.02	0.01
ACE inhibitors	39 (97)	20 (91)	0.50	40 (100)	31 (100)	1.00	0.16
Beta-blockers	20 (50)	15 (68)	0.28	22 (55)	28 (90)	0.002	0.07
Furosemide	39 (97)	20 (91)	0.62	40 (100)	31 (100)	1.00	0.16
High-dose (≥ 200 mg/ day)	0 (0)	0 (0)	1.00	7 (17)	6 (19)	0.72	0.07
Spirolactone	20 (50)	14 (63)	0.68	22 (55)	15(48)	1.00	0.40

ACE: angiotensin-converting enzyme; p: comparison between baseline and final visits in each group; p*: group comparison between final visits. Frequencies are expressed as a number (percentage).

Correlation between biological markers and filling pressures.

Analyzing the patient group as a whole, without differentiation between randomized groups, no significant correlations were observed between the levels of different biological markers and behaviors of pulmonary artery systolic and right atrial pressures, both at the beginning and at the end of the study. Additionally, the baseline levels of biological markers, when individually assessed, could not predict the hemodynamic response observed at the end of the study. Tables 5 and 6 show the correlations observed.

Table 5 – Correlations between biological marker levels and pulmonary artery systolic pressure.

Markers	Baseline PASP (mmHg)	
	r	P
Baseline MMP-1 (ng/mL)	0.13	0.27
Baseline PIIINP (μ g/L)	0.12	0.33
Baseline TNF- α (pg/mL)	0.16	0.19
Markers	Final PASP (mmHg)	
	r	P
Final MMP-1 (ng/mL)	0.32	0.04
Final PIIINP (μ g/L)	0.01	0.91
Final TNF- α (pg/mL)	0.15	0.35

PASP: pulmonary artery systolic pressure; MMP-1: type 1 extracellular matrix metalloproteinase; PIIINP: N-terminal propeptide of type III collagen; TNF- α : tumor necrosis factor- α .

Table 6 – Correlations between biological markers and right atrial pressure.

Markers	Baseline RAP (mmHg)	
	R	p
Baseline MMP-1 (ng/mL)	-0.03	0.78
Baseline PIIINP (μ g/L)	0.35	0.001
Baseline TNF- α (pg/ml)	0.11	0.31
Markers	Final RAP (mmHg)	
	R	p
Final MMP-1 (ng/mL)	0.06	0.65
Final PIIINP (μ g/L)	0.37	0.01
Final TNF- α (pg/mL)	0.23	0.14

RAP: right atrial pressure; MMP-1: type 1 extracellular matrix metalloproteinase; PIIINP: N-terminal propeptide of type III collagen; TNF- α : tumor necrosis factor - α .

Performance of the score of combined biological markers in relation with the final pressures of right-side cavities.

The combination of baseline values of biological variables resulted in a score related to percentile 75, ranging from 0 to 2, as described previously in the statistic analysis. The stratification of the whole patient group according to these scores pooled 31 patients in score 0, 40 in score 1, and 9 in score 2. In analyzing the final behavior of the pulmonary artery systolic pressure and right atrial pressure between the different strata of the score of the markers, significant associations were observed. Specifically, variables pooled in score 2 were predictive of a lower decline both in pulmonary artery systolic pressure and in right atrial pressure at the end of the study (Table 7 and Figures 5-6).

Table 7 – Association between baseline score of biological markers and final right-sided pressure levels.

Score	Final RAP (mmHg)			Final PASP (mmHg)	
	n	Mean	SNK	Mean	SNK
0	31	8		41	
1	40	9		41	
2	9	13	**	60	**
ANOVA		p = 0.036		p = 0.008	

RAP: right atrial pressure; PASP: pulmonary artery systolic pressure; SNK: Student-Newman-Keuls test; **: significantly different ($p < 0,05$) from scores 0 and 1.

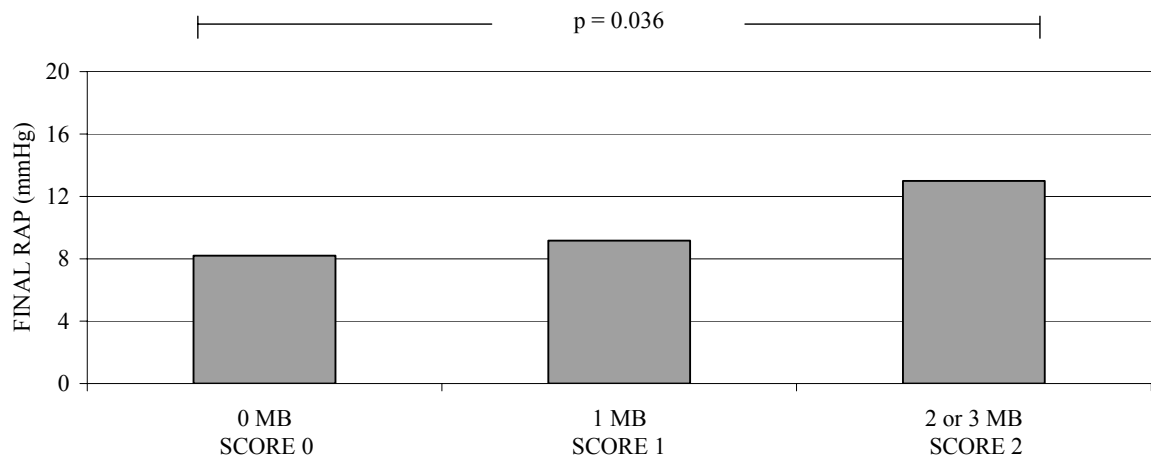


Figure 5 – Association between biological marker score and right atrial pressure (RAP).

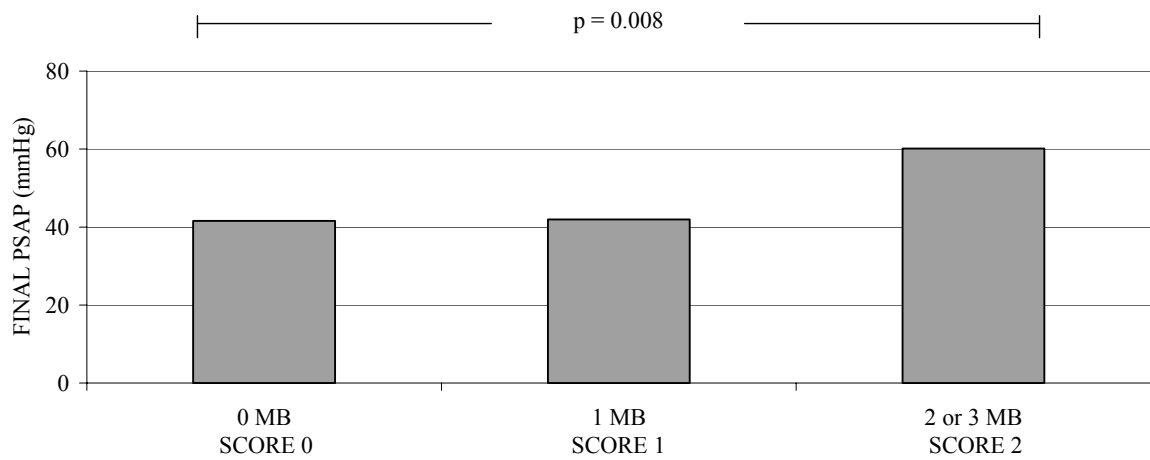


Figure 6 – Association between biological marker score and pulmonary artery systolic pressure (PASAP).

Discussion

The greater progress in the management of heart failure in the past 2 decades was driven by the pursuit of therapeutic regimens aimed at modulating the progression of ventricular remodeling. The greatest focus was on the use of angiotensin converting enzyme inhibitors and more lately beta-blockers. In this study, we sought to study the behavior of circulating biological markers in the remodeling process in advanced HF patients, treated according to clinical criteria following current guidelines, and comparing them to those treated according to hemodynamic parameters achieved by serial echocardiograms, in addition to following guidelines. We observed that both strategies reduce the levels of biological mediators, but higher initial levels of a combination of these markers may indicate a lower hemodynamic response.

The process of ventricular remodeling with progressive ventricular dilation corresponds to the anatomic-functional basis of the heart failure course, somehow indicating the severity profile of the patients. The clinical profile of the patients included in this study is compatible with more advanced cases of HF, though functionally most fit in NYHA classes I and II. Thus, a pronouncedly decreased ejection fraction and highly increased ventricular diameters clearly attest the disease progression; both parameters are independent markers of the worst prognosis (22, 23).

The close interaction between inflammatory mediators, extracellular matrix proteins and enzymes of the metalloproteinase family establishes a cycle of mechanisms that leads to structural changes in the ventricular geometry and subsequent functional compromise of the heart (24). The different activation paths of this cycle still remain as an object of intensive investigation. There are data pointing out that the analysis of biological mediators that support the disease progression could also serve as markers or indicators of an ominous prognosis. As a matter of fact, Klappacher et al. monitored PIIINP levels in patients with dilated cardiomyopathy and demonstrated correlations between levels of this mediator and disease severity, degree of hemodynamic compromise, hyponatremia and need for a heart transplant (12).

Our group has approached specific aspects of this process, studying the inflammatory activation in HF. In patients with advanced HF, we demonstrated that TNF- α levels are elevated, both of peripheral origin and from the coronary sinus, in relation to control subjects, indicating different sources for the production of this cytokine in HF (25). In the present study, TNF- α levels were similarly elevated at the baseline in both treatment groups, and in both there was a significant decrease at 6 months of follow-up. Other authors have also demonstrated a variation over time of TNF- α levels in patients with HF, as well as a decrease in the levels of other cytokines with the use of beta-blockers (26, 27). Therefore, our observations may simply reflect a decrease in the inflammatory activity associated with a more uptight clinical management of patients coming from decompensation states characterized by visits to emergency or hospitalization for HF.

If on one hand the inflammatory activity alone can indicate activation of the remodeling process, evidence has pointed out to a common link in this process that might be the positive signalization exerted by cytokines with the purpose of activating metalloproteinases, which, by their turn, would degrade different components of the extracellular matrix; additionally, the blocking of TNF- α in an experimental model of HF provided a reduction in the action of matrix metalloproteinases (28). Several studies have indicated that high circulating levels in the myocardial tissue of different metalloproteinases are found in the post-infarction period and also in dilated cardiomyopathy, invariably reflecting greater degrees of ventricular dilation (29, 30). On the other hand, a fine study by Rohde et al demonstrated the inhibition of metalloproteinases in post-acute myocardial infarction rat models was associated to a decrease in ventricular dilation (9). Our study confirmed high MMP-1 levels in patients with HF. At 6 months, a significant reduction was observed, which was similar in both patient groups. In the study by Zannad et al, the baseline levels of MMP-1 were lower than ours by 70%, and at 6 months the values didn't change (13). Perhaps this discrepancy may be partially accounted for by the differences observed in baseline levels (higher in our study), and may allow a greater range for reductions to occur, particularly under a more complete therapeutic regimen, especially considering that angiotensin II and adrenergic activation are known to be activators of metalloproteinases in the context of ventricular remodeling (31).

High levels of procollagen indicate high activity of scar tissue repair involving the extracellular matrix, which in the myocardial context is equivalent to changes in the configuration and framework of collagen, favoring a greater potential for ventricular dysfunction and dilation (6). After an acute myocardial infarction, Modena et al demonstrated that precociously more elevated levels of PIIINP were indicative of greater ventricular dilation at 6 months and aggravation of functional capacity (32). On the other hand, higher baseline levels of PIIINP (cutoff value at 3.85 µg/L) in a sub-study of the RALES trial were predictive of a better response to the use of spironolactone (13). This finding may indicate that the higher the degree of turnover and metabolism of the extracellular matrix are, the greater the chance for a medication that decreases the action of paths favorable to deposition of fibrosis (renin- angiotensin – aldosterone system, e.g.) to bring about beneficial effects. The baseline levels of PIIINP observed in the present study were higher approximately by 20% than those observed by Zannad et al; however, at 6 months these authors demonstrated discrete declines in these values (lower than 20%), albeit significantly higher in the group that received spironolactone. In our study, both groups showed significant declines, by 40%, in the PIIINP levels. Though we couldn't discriminate PIIINP levels with a greater prognostic impact, it must be stressed that our patients made use of beta-blockers, drugs with a known anti-remodeling potential, a finding that differentiates our group of patients in a definite way from the RALES trial, in which only 5% of the sample received beta-blockers.

In this study, though strategies to guide the therapeutic management were distinctive between the 2 groups studied, all patients received a contemporary approach for management of HF, observing the recommendations of current guidelines. Beta blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors and spironolactone were used in a similar fashion in all patients. Knowingly, these 3 drugs interfere in a significant way with ventricular remodeling; in fact, largely, if not totally, the beneficial effect on survival observed with these triad has been attributed to its anti-remodeling effects exerted through different paths to some extent complementary (33). In the present study, we observed a significant drop in the 3 markers studied at the end of the protocol. This may suggest that the continued and sustained use of multiple anti-remodeling drugs employed in HF can really abate the activation of the process, acting likewise in potentially interconnected mechanisms.

Finally, our study sought to address an additional element in the ventricular remodeling process, known as parietal stress. Some authors suggest that parietal stress is a crucial part for the triggering of the process and also for its perpetuation, since remodeling reflects a complex interaction of various biological and mechanic factors, contributing to the progression of ventricular dilation (34). Elegantly supporting this view, Li et al demonstrated that the use of a mechanic artificial support to the heart, therefore relieving the parietal stress, led to a reduction in the myocardial tissue expression of metalloproteinases and collagen products in patients with severe HF (7). Clinically, the maintenance of high filling pressures is equivalent to keeping an increased parietal stress. Further, congestive states (clinical expression of high filling pressures) are associated to a greater functional limitation and worse combinations of clinical outcomes (35). Thus, strategies aiming at an aggressive reduction in filling pressures with relief of both pre and post load could somehow reflect beneficially on the ventricular remodeling process and on an improvement of clinical indicators. Perhaps in part reflecting a more pronounced action in these hemodynamic aspects, a recent study demonstrated that the association of nitrates and hydralazine in blacks with HF led to a significant improvement of combined events in relation to the standard treatment including inhibitors of the angiotensin converting enzyme and beta blockers (36). Our study perhaps explores this mechanism to some extent, since in the group randomized for the echocardiogram-guided treatment, in which hemodynamic parameters closer to normal were pursued, a larger number of patients received hydralazine as vasodilator. This group of patients achieved at the end of the study a significant reduction in right atrial pressure and pulmonary artery systolic pressure as compared to the group under conventional clinical treatment. On the other hand, analyzing all patients, a group was identified in which reductions both of right atrial pressure and of pulmonary artery systolic pressure were clearly limited: those patients with a score combining higher baseline values of the 3 biological mediators completed the study maintaining values of filling pressures without significant modifications.

Study Shortcomings.

This is a study that raises hypotheses. Multiple biological and environmental factors could influence the levels of the mediators under study. For instance, the activity of

metalloproteinases is largely regulated by the action of their corresponding inhibitors. We didn't measure these mediators; their behavior could collaborate for a more comprehensive understanding of the activity of these enzymes in HF. Our observations derive from a restricted sample of patients. More sizeable studies are needed so that more definitive data can be investigated.

Conclusions

Our study didn't identify singularities among the 3 biological mediators studied concerning the ventricular remodeling process in HF, since these mediators presented similar behaviors: high levels at the baseline with significant reductions at 6 months, regardless of the group assigned. However, our study seems to be the first that sought to explore a potential mechanistic axis involving mechanic forces (filling pressures), cytokines, metalloproteinases and products from the synthesis of extracellular matrix in the context of HF treatment, not only oriented by guidelines, but also approaching hemodynamic aspects involved in the process. Specifically, in this respect, our study may be bringing a novel contribution: a limitation in achieving significant reductions in filling pressures was observed in those patients presenting a score composed of high levels of the 3 mediators at the baseline. One could speculate that in patients presenting this profile of biological mediators differentiated therapeutic strategies should be employed, perhaps including in the future the use of specific blockers of metalloproteinases, for instance.

References

1. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction – experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81:1161-72.
2. Stevenson LW, Tillisch JH, Hamilton M, et al. Importance of hemodynamic response to therapy in predicting survival with ejection fraction $\leq 20\%$ secondary to ischemic or nonischemic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1990; 66:1348-54.
3. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction- the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003; 107:1486-91.
4. Li YY, McTiernan CF, Feldman AM. Proinflammatory cytokines regulate tissue inhibitors of metalloproteinases and disintegrin metalloproteinase in cardiac cells. *Cardiovasc Res* 1999; 42:162-72.
5. Cohn J. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:569-82.
6. Weber K. Monitoring tissue repair and fibrosis from a distance. *Circulation* 1997; 96:2488-92.
7. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, et al. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* 2001; 104:1147-52.
8. Etoh T, Joffs C, Deschamps A, et al. Myocardial and interstitial matrix metalloproteinases activity after acute myocardial infarction in pigs. *Am J Physiol* 2001; 281:987-94.

9. Rohde LEP, Cheng C, Ridker S, et al. Echocardiographic-derived left ventricular end-systolic regional wall stress and matrix remodeling after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1999;33(3):835–42.
10. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, et al. Predischarge B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of re-admission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 18:635-41.
11. Jensen M, Horslev-Petersen K, Tolf P, et al. Serum aminoterminal type III procollagen peptide repair after acute myocardial infarction. *Circulation* 1990; 81:52-7.
12. Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995; 75(14):913-8.
13. Zannad F, Alla F, Dousset B, et al. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival of benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure - insights from the randomized aldactone evactone evaluation study (RALES). *Circulation* 2000; 102:2700-6.
14. Rohde LE, Furian T, Campos C, et al. Implications of the hemodynamic optimization approach guide by right heart catheterization in patients with severe heart failure. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78(3):261-6.
15. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Revisão da II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 2002; 79(supl. IV):1-30.
16. Stevenson LW, Perloff JK. The limited reliability of physical signs for estimating hemodynamics in chronic heart failure. *JAMA* 1989; 261:884-8.
17. Schiller NB. Two-dimensional echocardiographic determination of ventricular volume, systolic function, and mass. Summary and discussion of the 1989 recommendations of the American Society of Echocardiography. *Circulation* 1991;

84:1280-7.

18. Rohde LE, Silva Neto LB, Goldraich L, et al. Reliability and prognostic value of traditional signs and symptoms in outpatients with congestive heart failure. *Can J Cardiol* 2004; 20:697-702.
19. Stein JH, Neumann A, Preston LM, et al. Echocardiography for hemodynamic assessment of patients with advanced heart failure and potential heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30:1765-72.
20. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2001. Available at: http://www.acc.org/clinical/guidelines/failure/hf_index.html Accessed on November 2004.
21. Remme WJ, Swedber K. Task force for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2001; 22:1527-60.
22. Gradman A, Deedwania P, Massie B, et al. Predictors of total mortality and sudden death in mild to moderate heart failure. Captopril-Digoxin Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14(3):564-70.
23. Komajda M, Jais JR, Reeves F, et al. Factors predicting mortality in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1990;11(9):824-31.
24. Siwik DA, Colucci WS. Regulation of matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:43-51.
25. Grossman G, Rohde LEP, Clausell, N. Evidence for increased peripheral production of tumor necrosis factor-alpha in advanced congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2001; 88:578-81.

26. Dibbs Z, Thornby J, White BG, et al. Natural variability of circulating levels of cytokines and cytokine receptors in patients with heart failure: implications for clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(7):1935-42.
27. Aronson D, Burger AJ. Effect of beta-blockade on autonomic modulation of heart rate and neurohormonal profile in decompensated heart failure. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2001; 6(2):98-106.
28. Bradham WS, Moe G, Wendt KA, et al. TNF- α and myocardial matrix metalloproteinases in heart failure: relationship to LV remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:1288-95.
29. Wang W, Schulze CS, Suarez-Pinzon WL, Dyck JRB, Sawicki G, Schulz R. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 2002; 106:1543-49.
30. Thomas CH, Coker ML, Zellner JL, et al. Increased matrix metalloproteinases activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1998; 97:1708-15.
31. Tsuruda T, Costello-Boerrigter LC, Burnett Jr JC. Matrix metalloproteinases: pathways of induction by bioactive molecules. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:53-61.
32. Modena MG, Mollinari R, Rossi R, et al. Modification in serum concentrations of aminoterminal propeptide of type III procollagen in patients with transmural myocardial infarction. *Am Heart J* 1998; 135:287-92.
33. Mehra MR, Uber PA, Francis GS. Heart failure therapy at a crossroad: are there limits to the neurohormonal model? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(9):1606-10.
34. Janicki JS, Brower GL, Gardner JD, et al. The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodeling. *Heart Failure Reviews* 2004; 9:33-42.

35. Lucas C, Johnson W, Hamilton MA, et al. Freedom from congestion predicts good survival despite previous class IV symptoms of heart failure. *Am Heart J* 2000; 140(6):824-6.
36. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004; 351:2049-57.

Anexo

CONSENTIMENTO INFORMADO

Objetivo:

A finalidade deste estudo é comparar duas formas de tratamento e acompanhamento dos pacientes com insuficiência cardíaca. A primeira, e também tradicional, utiliza o exame físico e os sintomas do paciente para orientar quais medicamentos e que dose usar. A segunda associa o exame clínico de rotina a uma avaliação ecocardiográfica seriada do paciente e, a partir destes dados, orienta a terapêutica.

Assim, o Senhor(a) durante a alta hospitalar será convidado a seguir seu tratamento e acompanhamento no ambulatório de cardiologia deste hospital, com a equipe responsável pelo trabalho e especializada no seu problema cardíaco (insuficiência cardíaca). A partir de então, fará todas as avaliações clínicas de rotina, 3 ecocardiogramas conforme o grupo em que for sorteado, teste de caminhada com duração de 06 minutos, responderá a um questionário de como é sua vida atualmente e fará coleta de 20ml de sangue para dosagem de alguns elementos sanguíneos. O fato de seu médico estar utilizando dados do exame de coração (ecocardiograma) para ajustar a sua medicação poderá lhe trazer alguns problemas em decorrência de doses mais elevadas destes remédios, como desidratação, pressão baixa, tontura, cansaço, mal-estar e outros.

O senhor não deverá correr riscos adicionais ao participar deste protocolo. Poderá haver, no entanto, alguma insatisfação pelo tempo despendido na utilização de vários ecocardiogramas e dos demais testes. Convém alertá-lo que o investigador responsável, quando julgar necessário para o melhor encaminhamento do seu caso, pode excluí-lo(a) do estudo sem prejuízo ao seu tratamento médico. Da mesma forma, estará assegurado o seu direito de desistir de participar a qualquer momento do trabalho. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não afetará o seu atendimento médico futuro.

Todas as informações obtidas deste estudo, bem como as do seu prontuário e são utilizadas exclusivamente com finalidade científica, mantendo-se o anonimato. Declaro ter lido (ou me foi lido) as informações acima antes de assinar este formulário. Foi me dada total

oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo amplamente as minhas dúvidas. Se persistirem dúvidas ou houver necessidade de mais esclarecimento sobre o projeto, pode-se contatar com a Dra. Nadine Clausell, Farmacêutico Bioquímico Marcello Mascarenhas, desse modo, por este instrumento, tomo parte voluntariamente do presente estudo.

Porto Alegre , ____ de _____ de _____

Nome do paciente:

Assinatura do responsável