

Dissertação

EFEITOS DA TERAPIA COM METOTREXATO SOBRE A  
CAPACIDADE FÍSICA DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA  
CARDÍACA ISQUÊMICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-  
CEGO, CONTROLADO COM PLACEBO (ESTUDO METIS)

Daniel Medeiros Moreira

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FUNDAÇÃO UNIVERSITÁRIA DE CARDIOLOGIA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**  
**Área de Concentração: Cardiologia**

**EFEITOS DA TERAPIA COM METOTREXATO SOBRE A  
CAPACIDADE FÍSICA DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA  
CARDÍACA ISQUÊMICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-  
CEGO, CONTROLADO COM PLACEBO (ESTUDO METIS)**

**Autor: Daniel Medeiros Moreira**

**Orientador: Prof. Dr. Carlos Antônio Mascia Gottschall**

*Dissertação submetida como requisito  
para a obtenção do grau de mestre ao  
Programa de Pós Graduação em  
Ciências da Saúde: Cardiologia do  
Instituto de Cardiologia do Rio Grande  
do Sul/Fundação Universitária de  
Cardiologia.*

**Porto Alegre, RS**

**2009**

M838e

Moreira, Daniel Medeiros.

Efeitos da terapia com metotrexato sobre a capacidade física de pacientes com insuficiência cardíaca isquêmica: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo (estudo metis) / Daniel Medeiros Moreira; orientação [por] Carlos Antônio Mascia Gottschall – Porto Alegre, 2009. 87f ; tab.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul / Fundação Universitária de Cardiologia - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Insuficiência Cardíaca. 2. Isquemia Miocárdica.  
3. Metotrexato. I. Carlos Antônio Mascia Gottschall. II. Título.  
CDU: 616.12-008.46:615.015.4

Bibliotecária Responsável: Marlene Tavares Sodré da Silva  
CRB 10/1850

*Aos pacientes que aceitaram o desafio de participar deste ensaio clínico e contribuíram para o progresso do conhecimento sobre a Insuficiência Cardíaca.*

## **Agradecimentos**

A Deus, pois ainda que a minha carne e o meu espírito desfalecessem, Ele foi e será a fortaleza do meu coração e a minha herança para sempre.

À minha família, meus pais Adolfo Carlos Moreira e Ivone Medeiros Moreira e meus irmãos Tiago Medeiros Moreira e Isabel Medeiros Moreira, pelo estímulo e compreensão.

Ao amigo Thiago Prazeres Salum Müller, pelo apoio mesmo nos momentos de desânimo.

Ao grande companheiro e colega de residência Jefferson Luís Viera, participante na coleta de dados e desenvolvimento do projeto.

Aos companheiros de apartamento, César Augusto Angeli de Lima, Fábio Marcanth da Mota, Fábio Rodrigo Furini e Leonardo Gheller Zanatta, que acompanharam as angústias e alegrias do projeto.

À Mônica Motta Lino, pelo amor, carinho e estímulo à pesquisa. Foi também indispensável ao estudo, pois foi a pesquisadora independente que realizou a randomização dos pacientes.

À Leandro dos Santos Fischer e Mariana Souza de Oliveira, técnicos de radiologia que catalogaram todos os pacientes potencialmente randomizáveis e tornaram possível a realização do estudo.

Aos colegas de residência médica, incentivadores e críticos que mesmo indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste ensaio clínico.

À Lúcia Campos Pellanda, pelo apoio e pelas importantes sugestões ao projeto de pesquisa. Foi uma grande modeladora da paixão pela Epidemiologia.

Ao meu orientador, Carlos Antônio Mascia Gottschall, exemplo de médico, professor e pesquisador, incentivador na realização do trabalho e um modelo a ser seguido.

### Lista de Abreviaturas e Siglas:

- 8-SPT – 8-Sulfopenilteofilina;
- A<sub>1</sub> – Receptor de Adenosina tipo 1;
- A<sub>2</sub> – Receptores de Adenosina tipo 2;
- A<sub>2A</sub> – Receptor de Adenosina tipo 2A;
- A<sub>2B</sub> – Receptor de Adenosina tipo 2B;
- A<sub>3</sub> – Receptor de Adenosina tipo 3;
- A-HeFT – *African-American Heart Failure Trial*;
- Acadesina – 5-Aminoimidazol-4-Carboxamida Ribosídeo;
- AICAR – 5-Aminoimidazol-4-Carboxamida Ribonucleotídeo;
- AICAR transformilase – Enzima 5-Aminoimidazol-4-Carboxamida Ribonucleotídeo Transformilase;
- AMP – Adenosina Monofosfato;
- ANZ-CARVEDILOL – Estudo *Australia/New Zealand Heart Failure Research*;
- AT<sub>1</sub> – Receptor da Angiotensina II tipo 1;
- ATTACH – Estudo *Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure*;
- BNP – Peptídeo Natriurético tipo B;
- CARIBE – Estudo Efeitos do Carvedilol na Insuficiência Cardíaca por Cardiomiopatia Dilatada;
- CD14 – Cluster de diferenciação 14;
- CHARM – Estudo *Candesartan in Heart Failure Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity*;
- COPERNICUS – *Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study*;
- CIBIS I – *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study I*;
- CIBIS II – *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II*;
- CIBIS III – *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study III*;
- COMET – *Carvedilol or Metoprolol European Trial*;
- CONSENSUS – *Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study*;
- DIG – Estudo *Digitalis Investigation*;
- EARTH – *Endotelin<sub>A</sub> Receptor Antagonist Trial in Heart Failure*;

- ECA – Enzima Conversora da Angiotensina;
- ELITE II – *Losartan Heart Failure Survival Study II*;
- ELVD-CHF – Estudo *Exercise in Left Ventricular Dysfunction and Chronic Heart Failure*;
- EPHESUS – *Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study*;
- ICAM-1 – Molécula de Adesão Intracelular 1;
- IC – Insuficiência Cardíaca;
- IECA – Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina;
- IL-1 – Interleucina 1;
- IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 $\beta$ ;
- IL-2 – Interleucina 2;
- IL-6 – Interleucina 6;
- IL-8 – Interleucina 8;
- IL-10 – Interleucina 10;
- IL-18 – Interleucina 18;
- IMP – Inosina Monofosfato;
- INF- $\gamma$  – Interferon  $\gamma$ ;
- LIDO – Estudo *Levosimendan Infusion Versus Dobutamine*;
- LBP – Proteína Ligadora do LPS;
- LPS – Lipopolissacarídeo;
- MERIT-HF – *Metoprolol CR/XR Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure*;
- METIS – Deusa grega da prudência, primeira esposa de Zeus. Acrônimo do estudo *Efeitos da Terapia com METotrexato sobre a Capacidade Física de Pacientes com Insuficiência Cardíaca ISquêmica – METhotrexate Therapy Effects in the Physical Capacity of Patients With ISchemic Heart Failure*;
- MMP – Matriz Metaloproteinase;
- MRS1754 – 8-[4-[(4-cianohenil)carbamoilmetil]oxi]fenil]-1,3-di(npropil) xantina;
- MX-68 – Ácido N-1-((2,4-diamino-6-pteridinil)metil)-3,4-diidro-2H-1,4-benzotiazina-7-

carbonil]-N-2-aminoadipico;

- NF- $\kappa$ B – Fator Nuclear  $\kappa$ B;
- NO – Óxido Nítrico;
- PCR – Proteína C reativa;
- PRACTICAL – *Placebo-Controlled Randomized ACE Inhibitor Comparative Trial*;
- PRECISE – *Estudo Prospective Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise*;
- PREMIER – *Estudo Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling*;
- PROMISE – *Estudo Prospective Randomized Milrinone Survival Evaluation*;
- QUEST-RA – *Estudo Questionnaires in Standard Monitoring Patients with Rheumatoid Arthritis*;
- RALES – *Randomized Aldactone Evaluation Study*;
- RECOVER – *Research into Etanercept Cytokine Antagonism in Ventricular Dysfunction*;
- RENAISSANCE – *Randomized Etanercept North American Strategy to Study Antagonism of Cytokines*;
- RENEWAL – *Estudo Randomized Etanercept Worldwide Evaluation*;
- SAVE – *Survival and Ventricular Enlargement Trial*;
- SF-36 – *Short-Form-36*
- sIL-6R – Receptor Solúvel da Interleucina 6;
- SOLVD – *Studies of Left Ventricular Dysfunction*;
- SURVIVE – *Estudo Survival of Patients With Acute Heart Failure in Need of Intravenous Inotropic Support*;
- TACE – Enzima Conversora do Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$ ;
- TGO – Transaminase Glutâmico Oxalacética;
- TGP – Transaminase Glutâmico Pirúvica;
- TIMP – Inibidor da Matriz Metaloproteinase Tecidual;
- TLR4 – Receptor “*toll-like*”;
- TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$ ;
- TNFR1 – Receptor do Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  tipo 1;
- TNFR2 – Receptor do Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  tipo 2;

- TRACE – Estudo *Trandolapril Cardiac Evaluation*;
- UNLOAD – Estudo *Ultrafiltration Versus Intravenous Diuretics for Patients Hospitalized for Acute Decompensated Heart Failure*;
- US CARVEDILOL – *U.S. Carvedilol Heart Failure Study*;
- V-HeFT I – *Veterans Administration Cooperative Study I*;
- V-HeFT II – *Veterans Administration Cooperative Study II*;
- Val-HeFT – *Valsartan Heart Failure Trial*;
- VCAM-1 – Molécula de Adesão Vascular 1;

## Sumário

<b>1 BASE TEÓRICA.....</b>	<b>1</b>
1.1 EPIDEMIOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.....	1
1.2 FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTO.....	3
<b>1.2.1 Alterações Mecânicas e a Terapia com Inotrópicos e Diuréticos.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1.1 Alterações Mecânicas na Insuficiência Cardíaca Isquêmica.....</b>	<b>6</b>
1.2.2 Ativação Neuro-Hormonal e seu Tratamento.....	7
1.2.2.1 O Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	7
1.2.2.2 O Sistema Nervoso Simpático.....	11
1.2.3 O Eixo Inflamatório e a Hipótese das Citocinas.....	13
1.2.3.1 Alvos Terapêuticos Sobre o Eixo Inflamatório.....	16
1.3 METOTREXATO.....	18
1.3.1 Metotrexato como Antiinflamatório.....	18
1.3.2 Ações Cardiovasculares do Metotrexato.....	20
1.3.3 Efeitos Colaterais da Terapia com Metotrexato.....	22
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>23</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA BASE TEÓRICA.....</b>	<b>26</b>
<b>5 ARTIGO – VERSÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA.....</b>	<b>36</b>
5.1 RESUMO.....	37
5.1.1 Fundamentos.....	37
5.1.2 Métodos e Resultados.....	37
5.1.3 Conclusão.....	37
5.1 INTRODUÇÃO.....	37
5.2 MÉTODOS.....	38
5.2.1. Desenho do Estudo e Pacientes.....	38
5.2.2 Desfechos.....	40

<b>5.2.3 Análise Estatística</b> .....	<b>40</b>
5.3 RESULTADOS.....	41
<b>5.3.1 Parâmetros do Estudo</b> .....	<b>41</b>
<b>5.3.2 Desfechos</b> .....	<b>41</b>
5.4 DISCUSSÃO.....	42
5.5 FIGURAS E TABELAS.....	45
<b>6 ARTIGO – VERSÃO EM LÍNGUA INGLESA</b> .....	<b>50</b>
6.1 ABSTRACT.....	51
<b>6.1.1 Background</b> .....	<b>51</b>
<b>6.1.2 Methods and Results</b> .....	<b>51</b>
<b>6.1.3 Conclusion</b> .....	<b>51</b>
6.1 INTRODUCTION.....	51
6.2 METHODS.....	52
<b>6.2.1. Design and Patients</b> .....	<b>52</b>
<b>6.2.2 End-points</b> .....	<b>53</b>
<b>6.2.3 Statistical Analysis</b> .....	<b>54</b>
6.3 RESULTS .....	54
<b>6.3.1 Baseline</b> .....	<b>54</b>
<b>6.3.2 End-points</b> .....	<b>55</b>
6.4 DISCUSSION.....	56
6.5 FIGURES AND TABLES.....	59
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO</b> .....	<b>64</b>
<b>8 ANEXOS</b> .....	<b>68</b>

## 1 BASE TEÓRICA

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

“O paciente aparece amarelo; todo corpo é edemaciado; a face é vermelha; a boca é seca; ele é sedento; quando ele come, a respiração acelera. No mesmo dia às vezes ele parece melhor enquanto outras vezes ele sofre agudamente e parece estar à beira da morte.” - esta é a uma das primeiras descrições do quadro clínico da Insuficiência Cardíaca, atribuída a Hipocrates por volta do século V a.C. (1). Além dos gregos, antigos egípcios, romanos e indianos também descreveram a insuficiência cardíaca. Existia, entretanto, pouca compreensão sobre a natureza da condição até a descrição da circulação sangüínea por Willian Harvey em 1628. A criação do estetoscópio por Renè Laennec em 1819, a descoberta dos raios-x por Wilhelm Conrad Roentgen em 1895 e o desenvolvimento da eletrocardiografia na mesma década trouxeram importantes avanços na investigação da síndrome. Da mesma forma, criação da ecocardiografia, do cateterismo cardíaco e da medicina nuclear foram passos importantes no processo de investigação e diagnóstico (2). A evolução científica nas últimas décadas transformou a clássica definição de Insuficiência Cardíaca: reconhecida como uma complexa síndrome clínica atribuída a uma deficiência mecânica em manter adequada a perfusão tecidual, é atualmente reconhecida como dinâmico processo mal-adaptativo que envolve alterações mecânicas, moleculares, imunológicas, isquêmicas, vasculares, músculo-esqueléticas e pró-arrítmicas (3, 4).

Um dos maiores passos na avaliação da etiologia e do prognóstico dos pacientes surgiu com o estudo de Framingham: dados da coorte mostraram que, um ano após do diagnóstico, a mortalidade entre homens era de 43% e 36% entre mulheres. Após 5 anos, a mortalidade entre homens era de 75% e 62% entre mulheres. O mesmo estudo apresentou a cardiopatia isquêmica como principal fator etiológico, responsável por 59% dos casos entre homens e 48% entre mulheres. Um viés nestes dados decorre do fato de que a coorte de Framingham iniciou em 1968 e, desta forma, deixou de avaliar o impacto positivo de diferentes terapias como os inibidores da enzima conversora da angiotensina (5). Estes valores, contudo, não são muito diferentes de recentes dados brasileiros: um estudo transversal que avaliou pacientes internados com o diagnóstico de Insuficiência Cardíaca mostrou que a cardiopatia isquêmica foi o fator etiológico mais prevalente, em 49,9% dos

homens e 31,4% das mulheres. Além disso, o mesmo estudo mostrou que a mortalidade durante a internação foi de 19,8% e, após um ano, a mortalidade total era de 31,9% (6).

Tabela 1 – Internações hospitalares no Brasil por Insuficiência Cardíaca segundo o ano

Ano	Internações	
	Nº	%
2000	398.489	3,3%
2001	385.758	3,3%
2002	372.594	3,2%
2003	356.785	3,1%
2004	339.770	2,9%
2005	316.386	2,8%
2006	299.438	2,6%
2007	293.759	2,6%

Fonte: Ministério da Saúde - Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS), 2008.

Dados norte-americanos apontam para uma prevalência de Insuficiência Cardíaca de 2,5% na população com mais de 20 anos e um custo anual total de 34,8 bilhões de dólares com a patologia (7). Dados do Ministério da Saúde brasileiro (Tabela 1) revelam que, no ano de 2007, a IC foi responsável por 2,6% das internações hospitalares (terceira maior causa de internação, ficando atrás de internações por gravidez/parto e pneumonia). Correspondeu também a 6,0% dos óbitos no ano de 2007 (Tabela 2) e a um custo total de R\$ 233.064.862,10 (3,1% do total dos gastos com internações) (8).

Tabela 2 – Óbitos no Brasil por Insuficiência Cardíaca segundo o ano

Óbitos		
Ano	Nº	%
2000	26.368	8,3%
2001	25.511	7,9%
2002	25.982	7,7%
2003	25.684	7,4%
2004	25.639	7,1%
2005	24.041	6,5%
2006	23.913	6,4%
2007	23.442	6,0%

Fonte: Ministério da Saúde - Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS)

## 1.2 FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTO

### 1.2.1 Alterações Mecânicas e a Terapia com Inotrópicos e Diuréticos

Após uma agressão tecidual, o miocárdio responde com uma alteração da geometria ventricular conhecida como remodelamento, que pode ser restrito a pequenas áreas ou envolver todo o miocárdio, dependendo do fator etiológico. A partir de uma disfunção sistólica, em um processo adaptativo, há um aumento do volume ventricular com conseqüente aumento do volume diastólico final, que permite que o débito cardíaco permaneça inalterado em estágios iniciais. Dentro deste processo, na maioria dos casos de Insuficiência Cardíaca, há uma hipertrofia inicial dos miócitos, que reduz o estresse parietal pelo aumento da espessura a parede segundo a Lei de Laplace (3, 4).

Esta “hipótese hemodinâmica”, que ficou conhecida nas décadas de 60 e 70, atribuía ao remodelamento um processo mecânico “compensador”. Com a evolução do conhecimento sobre a patologia, ficou claro que o remodelamento não está associado

apenas a processos mecânicos: aparecem complexas alterações como a apoptose celular, alteração de expressão de genes, dissolução da estrutura de colágeno que mantém miócitos unidos, crescimento da matriz extracelular, bem como a ativação do sistema renina-angiotensina, neuro-hormonal e inflamatório (que serão discutidos posteriormente). Além disso, apesar de promover uma adaptação às alterações iniciais, o remodelamento leva a um caminho de inexorável piora da função ventricular (9, 10).

Fragmentos de descrições hipocráticas sugeriam que pacientes com “hidropsia” deveriam “se cansar, suar, comer pão, beber pouco, lavar a cabeça com água em abundância, não quente, mas sem grande entusiasmo e evitar vinho branco e muito sono” (1). À luz das alterações puramente hemodinâmicas, todavia, durante muitos séculos se preconizou, além da restrição hídrica e do consumo de sal, o repouso, na contramão do que preconizava a terapia no tempo de Hipócrates (11). O treinamento físico, contudo, voltou a aparecer como uma possibilidade terapêutica apenas na última década com estudos como o *Exercise in Left Ventricular Dysfunction and Chronic Heart Failure* (ELVD-CHF), que comprovaram uma redução do remodelamento, com redução do volume diastólico final, melhora na qualidade de vida e aumento na distância no teste da caminhada de 6 minutos após 6 meses de treinamento (12). Outros tratamentos não-farmacológicos que foram historicamente utilizados durante séculos para o tratamento incluem o uso de sangrias, sangue-sugas, e dos tubos de Southey para reduzir o edema periférico (2).

A história do tratamento farmacológico da Insuficiência Cardíaca começou em 1785 com a publicação do livro “*William Withering’s An Account of the Foxglove, and Some of its Medical Uses: with Practical Remarks on Dropsy, and Other Diseases*” que descreveu a experiência do autor com 163 pacientes durante 10 anos de estudo sobre os efeitos da *Digitalis purpurea*. Whitering relatou os efeitos sobre “o aumento da diurese e o poder de movimentar o coração a graus não alcançados por outros medicamentos”, apesar de descrever também “vômitos, vertigens, visão confusa com objetos parecendo verdes e amarelos, pulso tão lento como a 35 por minuto...” como efeitos colaterais da droga. Somente no início do século passado, contudo, foi descrito o real efeito inotrópico positivo da digoxina, que atua sobre a bomba de sódio-potássio-ATPase, e produz um aumento de cálcio intracelular livre para contração muscular (13). Em 1997, com a publicação do estudo

*Digitalis Investigation* (DIG), ficou comprovado a ação da digoxina na redução dos sintomas e do número de internações hospitalares, sem efeitos sobre a redução da mortalidade e, com uma incidência de toxicidade de 11,9% no braço randomizado para receber a droga (14). Outros agentes inotrópicos surgiram com o objetivo de “aumentar a contratilidade cardíaca”. As evidências, entretanto, mostraram prejuízo inequívoco destas drogas: O estudo *Prospective Randomized Milrinone Survival Evaluation* (PROMISE), por exemplo, mostrou que o milrinone administrado via oral promoveu um aumento da mortalidade de 34% quando comparado com placebo, além de piorar a sintomatologia e aumentar o número de hospitalizações (15). Diante destes dados, diretrizes da Associação Americana de Cardiologia sugerem, com base apenas na opinião de especialistas, que o uso de agentes inotrópicos não-digitálicos como a dobutamina são justificados apenas em pacientes com Insuficiência Cardíaca Refratária para alívio dos sintomas (16). Ensaio clínico recente buscou comprovar o benefício do uso de levosimendan, um agente inotrópico que sensibiliza a troponina C ao cálcio, sobre a dobutamina: apesar do estudo *Levosimendan Infusion Versus Dobutamine* (LIDO), que randomizou pacientes para receber dobutamina ou levosimendan ter demonstrado uma redução da mortalidade com a utilização do último, o estudo *Survival of Patients With Acute Heart Failure in Need of Intravenous Inotropic Support* (SURVIVE), que possuiu um maior poder, não mostrou nenhuma superioridade sobre a dobutamina (17, 18).

A utilização de diuréticos começou a ser descrita no início do século passado. Em 1925 um estudo não controlado sobre os efeitos do novasurol, um agente organomecurial criado para tratamento da sífilis e aplicado intramuscular, mostrou resultados surpreendentes sobre o aumento da diurese, redução do edema, redução de peso e alívio de sintomas de pacientes com Insuficiência Cardíaca (11). A partir de 1958 os tiazídicos foram introduzidos na prática clínica e, através da ação no túbulo contorcido proximal, mostravam redução do edema em mais de 80% dos pacientes (19). Aproximadamente dez anos depois surgiram os diuréticos de alça: um estudo não controlado da época relatava a superioridade dos efeitos diuréticos da furosemida, efetiva mesmo em pacientes que não respondiam a outros diuréticos e que possuíam insuficiência renal (20). A sobrecarga de volume, que motivou a introdução dos diuréticos na prática clínica a partir da década de 20, contudo, persiste como

importante causa de morbidade entre pacientes com Insuficiência Cardíaca. Existe, desta forma, uma lacuna terapêutica que permanece sob investigação: recentemente um ensaio clínico que avaliou a resposta ao tolvaptan, um bloqueador do receptor de arginina-vasopressina que promove diurese sem natriurese, demonstrou uma melhora da dispnéia e redução significativa do peso, apesar de não reduzir mortalidade ou melhora na qualidade de vida (21). O estudo *Ultrafiltration Versus Intravenous Diuretics for Patients Hospitalized for Acute Decompensated Heart Failure* (UNLOAD), por sua vez, que comparou a ultrafiltração com a administração de diuréticos de alça em pacientes com Insuficiência Cardíaca descompensada, mostrou uma redução de 44% na re-hospitalização em 90 dias, maior perda hídrica e de peso, apesar de não melhorar a dispnéia ou a qualidade de vida (22).

#### **1.2.1.1 Alterações Mecânicas na Insuficiência Cardíaca Isquêmica**

Além das alterações previamente definidas, a doença isquêmica pode manifestar disfunção sistólica sob duas formas *sui generis*: o miocárdio atordoado e o miocárdio hibernado.

O conceito de miocárdio atordoado refere-se à porção de miocárdio que apresenta disfunção provocada por evento isquêmico, apesar de restabelecido o fluxo tecidual. O tempo de atordoamento pode variar de horas a semanas, na dependência do grau do insulto isquêmico inicial. O miocárdio hibernado, por sua vez, refere-se à porção de miocárdio com déficit contrátil persistente provocado por uma redução de fluxo coronariano que pode ser restabelecido parcial ou completamente após a correção do distúrbio gerador da deficiência de oxigênio tecidual. Aventa-se a hipótese de que o miocárdio hibernado seria um processo protetor, que reduziria o metabolismo tecidual para evitar o dano miocárdico irreversível. Sugere-se também que o miocárdio hibernado poderia ser fruto de sucessivos episódios de atordoamento provocados por aumento da demanda de oxigênio como no exercício ou por redução do fluxo como no espasmo coronariano (23).

Diferentes estudos sugerem potenciais alvos terapêuticos para reduzir a incidência de miocárdio atordoado ou hibernado: um recente estudo que utilizou agonistas do receptor de adenosina  $A_{2A}$  em dose não-vasodilatadora mostrou uma redução significativa do atordoamento (avaliado através do grau de encurtamento da parede) nas áreas de isquemia

induzida em cães (24). Um ensaio clínico que utilizou infusão de adenosina intracoronária em pacientes com infarto agudo do miocárdio, por sua vez, promoveu uma recuperação de áreas de dissinergia em 64% dos casos, ao passo que no grupo controle a recuperação ocorreu apenas em 32%. O mesmo estudo mostrou uma redução significativa na incidência de mortes de causa cardiovascular (25). Outro ensaio mostrou que a infusão de adenosina na veia cava superior no transoperatório da cirurgia de revascularização do miocárdio promoveu uma significativa melhora do índice cardíaco no pós-operatório (26). Outros ensaios clínicos demonstraram que a adenosina reduziu a incidência de mionecrose em angioplastias coronarianas eletivas e, quando aplicada endovenosa na dose de 70µg/Kg/min, reduziu significativamente a área de infarto em pacientes com infarto agudo do miocárdio, apesar de não mostrar redução na incidência de Insuficiência Cardíaca. A redução de áreas de infarto e, potencialmente, de disfunção ventricular em pacientes tratados com adenosina estaria ligada à ação sobre diferentes receptores, além do A<sub>2A</sub>, como o A<sub>1</sub> e A<sub>3</sub>. A estimulação destes promoveria o condicionamento miocárdico, reduziria o estresse oxidativo e atenuaria a resposta inflamatória, como será discutido posteriormente (23, 24, 27, 28).

## **1.2.2 Ativação Neuro-Hormonal e seu Tratamento**

### **1.2.2.1 O Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona**

A partir do início da década de 80, a visão exclusivamente mecânica da Insuficiência Cardíaca começou a ser derrubada. Estudos da época sugeriram que, nos estágios iniciais ou em episódios de descompensação da Insuficiência Cardíaca a hipotensão decorrente da falência de bomba ativaria um mecanismo compensatório que aumentaria a atividade da renina plasmática. A renina promoveria maior produção de angiotensina II, um potente vasoconstritor da arteríola eferente renal e da circulação periférica que também promoveria maior liberação de aldosterona. A aldosterona, por sua vez, aumentaria o volume extracelular através da retenção de sal e água. Em pacientes que apresentassem um quadro compensado, os níveis de renina plasmática, angiotensina II e aldosterona voltariam ao normal. Não existia ainda, todavia, a visão de que a constante ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona apresentasse um caráter mal-adaptativo e perpetuador da disfunção miocárdica (29).

Na mesma década, entretanto, a vasoconstrição periférica passou a ser classificada como prejudicial à função ventricular: o estudo *Veterans Administration Cooperative Study I* (V-HeFT I), que randomizou pacientes sintomáticos com disfunção sistólica para receber hidralazina associada a nitrato, prazosin ou placebo, mostrou que aqueles que receberam hidralazina associada à nitrato apresentaram, nos dois primeiros anos, uma mortalidade 34% menor do que o placebo. A associação das duas drogas também promoveu um aumento significativo da fração de ejeção ventricular. O prazosin, por sua vez, não mostrou melhora na mortalidade ou na função ventricular (30). O ensaio clínico *Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study* (CONSENSUS) mostrou que a ação vasodilatadora do enalapril, um inibidor da enzima conversora da angiotensina, reduziu em 36% a mortalidade em um ano, além de melhorar significativamente a classe funcional de pacientes com Insuficiência Cardíaca com dispnéia ao repouso, apesar do tratamento com diuréticos e digoxina. A significativa resposta do bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona no estudo CONSENSUS obrigou o comitê de ética do estudo a suspender a randomização de novos pacientes antes do previsto e recomendar a utilização da droga a todos os que possuíam o perfil estudado (31). No início da década de 90 os estudos *Studies of Left Ventricular Dysfunction* (SOLVD tratamento e SOLVD prevenção) mostraram uma redução na incidência de hospitalizações dentre pacientes com disfunção sistólica, sintomáticos ou não. O braço que avaliou pacientes sintomáticos com fração de ejeção reduzida mostrou uma redução na mortalidade de 16% quando comparado ao placebo. Entre os pacientes assintomáticos, apesar de promover uma redução de 37% no risco de Insuficiência Cardíaca sintomática, o enalapril não mostrou uma redução significativa da mortalidade quando comparado ao placebo (32, 33).

Estabelecida a importância do tratamento com vasodilatadores na Insuficiência Cardíaca, o estudo *Veterans Administration Cooperative Study II* (V-HeFT II) comparou duas diferentes terapias: nitrato associado a hidralazina ou enalapril. Os resultados mostraram uma superioridade no enalapril sobre a redução da mortalidade. A associação de hidralazina e nitrato, todavia, mostrou-se superior na redução dos sintomas e na incidência de efeitos colaterais como a insuficiência renal. A associação de hidralazina e nitrato, desta forma, aparecia como uma opção razoável para pacientes com disfunção sistólica sintomática que,

por algum motivo, não pudessem utilizar inibidores da enzima conversora da angiotensina. Na época da publicação, contudo, o autor já sugeria um potencial efeito benéfico da associação das três drogas (34). Mais de uma década depois, o estudo *African-American Heart Failure Trial* (A-HeFT) avaliou o efeito da associação de nitrato e hidralazina em pacientes negros que recebiam a terapia padrão para Insuficiência Cardíaca (que incluía inibidores da ECA). Os resultados mostraram uma redução de 43% da mortalidade com a associação, o que obrigou o comitê de segurança a interromper o estudo antes do previsto e sugerir a associação terapêutica a todos os pacientes. Cogita-se que o nitrato e a hidralazina possam melhorar a função endotelial (que parece ser pior em negros). Apesar de estabelecido o benefício do citado tratamento em negros, há uma lacuna sobre sua potencial ação em outros pacientes (35).

O bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona com inibidores da ECA em pacientes com infarto agudo do miocárdio provou prevenir o remodelamento miocárdico e controlar o processo mal-adaptativo inerente à ativação deste sistema: o estudo *Survival and Ventricular Enlargement Trial* (SAVE) mostrou que, entre pacientes com IAM, o captopril reduziu a mortalidade por todas as causas em 19%. Reduziu também a incidência de infartos recorrentes e de Insuficiência Cardíaca com necessidade de internação ou uso aberto de IECA. Não se observou, todavia, alterações na fração de ejeção ventricular. O ensaio clínico *Placebo-controlled Randomized ACE Inhibitor Comparative Trial* (PRACTICAL), por sua vez, comprovou que a utilização de captopril ou enalapril no pós-IAM impediu significativamente o aumento do volume diastólico final do ventrículo esquerdo após 3 meses, quando comparado com placebo. O benefício observado sobre o bloqueio do remodelamento também foi significativo mesmo em pacientes com fração de ejeção preservada após o evento isquêmico (36, 37). Outros estudos como o *Trandolapril Cardiac Evaluation* (TRACE) reiteram o benefício dos inibidores da ECA na redução da mortalidade e no desenvolvimento de disfunção sistólica sintomática em pacientes com IAM (38).

O bloqueio direto do receptor de angiotensina II AT<sub>1</sub> demonstrou resultados importantes em diferentes ensaios clínicos: o estudo *Losartan Heart Failure Survival Study II* (ELITE II), que comparou o captopril com o losartan, mostrou que o inibidor de AT<sub>1</sub> não reduziu a mortalidade. Apesar de não ser um estudo de equivalência, os dados mostraram

que o losartan poderia ser uma opção razoável em pacientes com efeitos colaterais aos inibidores da ECA (39). O estudo *Valsartan Heart Failure Trial* (Val-HeFT), por sua vez, comparou o valsartan com placebo em pacientes recebendo a terapia padrão para Insuficiência Cardíaca, o que incluía os inibidores da ECA. Houve uma redução de 13% do desfecho combinado (morte, hospitalização por Insuficiência Cardíaca, parada cardíaca com ressuscitação ou necessidade de terapia intravenosa) no grupo que utilizou o inibidor AT<sub>1</sub>. Uma avaliação de subgrupos, todavia, mostrou que pacientes que recebiam inibidores da ECA e beta-bloqueadores apresentavam uma maior mortalidade (40). O estudo *Candesartan in Heart Failure Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity* (CHARM) mostrou que o uso de candesartan associado à terapia padrão para Insuficiência Cardíaca reduziu em 10% a mortalidade por todas as causas e 13% das causas cardiovasculares. Além disso, o candesartan reduziu o número de hospitalizações e incidência de novos casos de diabetes. O grupo que utilizou o citado bloqueador AT<sub>1</sub> apresentou níveis pressóricos menores, o que poderia ser um dos motivos da redução na incidência do desfecho primário do estudo (41).

A aldosterona promove retenção de sódio, perda de potássio e magnésio, ativação simpática, inibição parassimpática, fibrose vascular e miocárdica além de alterações na complacência arterial e disfunção em barorreceptores. Por algum tempo acreditou-se que haveria uma supressão na formação de aldosterona por meio da inibição da ECA e a utilização de um bloqueador do receptor da aldosterona traria apenas mais efeitos colaterais ao tratamento. O estudo *Randomized Aldactone Evaluation Study* (RALES), contudo, mostrou que pacientes com Insuficiência Cardíaca submetidos ao tratamento padrão e que eram randomizados para receber espironolactona apresentaram uma redução de 30% na mortalidade quando comparado ao placebo. Este resultado obrigou o comitê de segurança do estudo a interrompê-lo antes de final. A espironolactona também mostrou uma redução de 30% nas hospitalizações por causas cardiológicas e uma melhora significativa dos sintomas (42). A partir do estudo *Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study* (EPHESUS), ficou claro que o bloqueio da aldosterona também era importante em pacientes pós-infarto com disfunção sistólica, evitando o remodelamento: o eplerenone reduziu em 15% a mortalidade, 17% das mortes cardiovasculares e 15% das internações por Insuficiência Cardíaca. Ao contrário da espironolactona, todavia, o

epiphenomenon não aumentou a incidência e ginecomastia ou disfunção erétil em homens (43).

### **1.2.2.2 O Sistema Nervoso Simpático**

Desde a década de 60 já se descrevia o aumento da ativação simpática em pacientes com Insuficiência Cardíaca. Existia, todavia, a visão de que esta ativação fosse apenas um processo adaptativo que buscava a homeostase. A partir da década de 80 apareceram dados que mostraram que o aumento da estimulação adrenérgica contribuía para o aumento da frequência cardíaca, com aumento do gasto energético, além da promoção de hipertrofia, isquemia, taquiarritmias e dano miocárdico conseqüente à sobrecarga de cálcio ou à apoptose de miócitos. Atualmente sabe-se que o miocárdio insuficiente apresenta uma alteração na transdução do sinal oriundo da ativação dos receptores  $\beta$  e um efeito “*downregulation*” de receptores  $\beta_1$  conseqüente à hiperestimulação simpática (10).

Apesar do conhecimento sobre a importância do sistema nervoso simpático, foi apenas na década de 90 que começaram a aparecer estudos com poder suficiente para mostrar a importância do bloqueio adrenérgico. Um dos primeiros estudos com este propósito foi o *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study I* (CIBIS I), que avaliou o bisoprolol, um bloqueador seletivo do receptor  $\beta_1$ , em pacientes com Insuficiência Cardíaca classe III e IV. Apesar de mostrar uma redução na incidência de descompensação que necessitasse de internação, não houve diferença na mortalidade entre os grupos que usaram bisoprolol e placebo. Houve, entretanto, redução da mortalidade no subgrupo de pacientes sem história de infarto do miocárdio (44). Um significativo efeito do bisoprolol sobre a redução da mortalidade foi demonstrado apenas com um estudo de maior poder, o *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II* (CIBIS II). Este também comprovou que o  $\beta$ -bloqueador reduz a incidência de morte súbita, o que poderia sugerir uma ação desta droga na prevenção de episódios de taquiarritmias (45). O ensaio *Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study III* (CIBIS III) provou que em pacientes com Insuficiência Cardíaca classe II e III a atitude de iniciar com bisoprolol para depois adicionar o enalapril é não-inferior ao ato de iniciar com o inibidor da ECA para a posterior introdução da terapia com o  $\beta$ -bloqueador. O subgrupo de pacientes com fração de ejeção menor do que 28%, entretanto, apresentou superioridade da terapia iniciada com

bisoprolol quando comparada à iniciada com enalapril (46). O ensaio clínico *U.S. Carvedilol Heart Failure Study* (US CARVEDILOL), por sua vez, avaliou o carvedilol, um antagonista não-seletivo de receptores  $\beta$  e  $\alpha_1$  que possui efeitos antioxidantes, em pacientes com disfunção sistólica sintomática. O grupo de pacientes randomizado para receber carvedilol apresentou uma redução significativa de 65% no risco de mortalidade e 27% no risco de hospitalização quando comparado com o grupo placebo. O efeito do carvedilol neste estudo foi superior em todos os subgrupos, inclusive nos pacientes com etiologia isquêmica, ao contrário do que o CIBIS havia mostrado com o bisoprolol (47). O efeito do carvedilol foi também avaliado pelo estudo *Prospective Randomized Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise* (PRECISE), que mostrou uma ausência de alterações na capacidade física avaliada no teste da caminhada, apesar de demonstrar que o  $\beta$ -bloqueador melhorou a classe funcional e aumentou a fração de ejeção ventricular, independentemente da presença ou não de história de doença isquêmica. A falta de resposta sobre a tolerância ao exercício foi atribuída, no estudo, ao fato de que testes como a caminhada de 6 minutos não conseguem avaliar a síndrome como um todo e correspondem exclusivamente às condições da Insuficiência Cardíaca no momento do teste (48). O estudo *Australia/New Zealand Heart Failure Research* (ANZ-CARVEDILOL) corroborou com os dados do US CARVEDILOL quando comprovou um aumento da fração de ejeção ventricular de 5,2% e uma redução no volume diastólico de pacientes tratados com carvedilol, apesar de não promover mudanças na distância caminhada no teste de 6 minutos ou na classe funcional (49). O carvedilol ainda apresentou resultados positivos no estudo *Efeitos do Carvedilol na Insuficiência Cardíaca por Cardiomiopatia Dilatada* (CARIBE), que demonstrou uma melhora na fração de ejeção com o uso do  $\beta$ -bloqueador e no estudo *Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study* (COPERNICUS), que comprovou uma redução de 35% na mortalidade de pacientes com sintomatologia mais severa (50, 51). O succinato de metoprolol, outro antagonista seletivo dos receptores  $\beta_1$ , foi avaliado em pacientes com disfunção sistólica sintomática no estudo *Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure* (MERIT-HF). Os resultados mostraram que a droga reduziu a mortalidade em 34%, a incidência de mortes súbitas em 41% e o de morte por piora da Insuficiência Cardíaca em 49% (52). Com os diferentes ensaios clínicos que mostravam o

benefício de bloqueadores adrenérgicos seletivos e não-seletivos, restava a dúvida sobre uma possível superioridade de algum deles. A fim de esclarecer esta dúvida terapêutica, o *ensaio Carvedilol Or Metoprolol European Trial* (COMET) randomizou pacientes para receber carvedilol ou tartarato de metoprolol. Os dados mostraram que os pacientes que receberam carvedilol apresentaram uma redução de 17% na mortalidade quando comparado com aqueles que receberam metoprolol. Apesar da diferença, criticou-se o fato de que o COMET utilizou tartarato de metoprolol e não o succinato, que havia sido utilizado no CIBIS (53).

### 1.2.3 O Eixo Inflamatório e a Hipótese das Citocinas

As alterações mecânicas e neuro-hormonais não pareciam explicar completamente o surgimento e evolução da Insuficiência Cardíaca. Desta forma, nas últimas décadas, dados da área básica e de grandes ensaios comprovaram a existência de um “eixo inflamatório” que ficou conhecido como “Hipótese das Citocinas”.

As citocinas são proteínas de pequeno peso molecular (geralmente 15 – 30 KDa) que possuem ação parácrina e autócrina. Ao contrário de hormônios, entretanto, não são produzidos por um tipo celular específico. Podem exercer suas ações em receptores específicos ou diretamente sobre a membrana (54).

Ainda existem muitas incertezas de como iniciaria a ativação inflamatória, mas algumas hipóteses parecem bastante plausíveis: a estimulação antigênica (como ocorre na miocardite e na rejeição à transplantes); ativação secundária à injúria miocárdica que poderia “expor novos antígenos” que funcionam como alvos ao sistema imune (como ocorre com o infarto do miocárdico); ativação secundária à exposição de endotoxinas bacterianas (55). Sugere-se que o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) entraria na circulação sanguínea através de translocação em intestinos edemaciados. O LPS se ligaria à proteína ligadora do LPS (LBP) e o complexo LPS-LBP interagiria com o receptor CD14 para induzir a ativação inflamatória. Esta hipótese é fortalecida com dados que mostram que há uma correlação positiva entre os níveis de CD14 e LPS e que pacientes edemaciados tratados com diuréticos apresentam uma redução significativa dos níveis de LPS (56). O LPS, associado ao CD14, se ligaria ao receptor “*toll-like*” (TLR4) e, desta forma ativaria o Fator Nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), ao passo que em células não estimuladas o NF- $\kappa$ B citoplasmático permaneceria

ligado à proteína inibitória I $\kappa$  que impede sua ação nuclear. O NF- $\kappa$ B ativado transforma-se em um promotor da transcrição de RNA mensageiro que aumentaria a produção de Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) que é clivado da membrana pela Enzima Conversora de TNF- $\alpha$  (TACE). O TNF- $\alpha$  exerce sua ação nos receptores de TNF 1 e 2 (TNFR1 e TNFR2). Os potenciais efeitos do TNF- $\alpha$  são o aumento exagerado na síntese de óxido nítrico (NO) por ativação da NO sintase, piora da função endotelial, desacoplamento do receptor  $\beta$  da adenilato ciclase, indução de resistência insulínica, aumento de apoptose em miócitos, indução de remodelamento e disfunção miocárdica (57). O miocárdio normal não produz TNF- $\alpha$ , mas expressa seus receptores. Em pacientes com Insuficiência Cardíaca, além do aumento de TNF- $\alpha$ , há um efeito “*downregulation*” sobre os TNFRs (55). Estímulos com níveis crescentes de LPS parecem promover um efeito dose-dependente no aumento final de TNF- $\alpha$  em pacientes com Insuficiência Cardíaca. Todavia aqueles que apresentam caquexia parecem ter uma resposta reduzida ao fenômeno por um possível efeito de dessensibilização (Figura 1) (58).

Além do aumento de TNF- $\alpha$ , CD14 e TNFR1 e TNFR2, estão descritos o aumento nos níveis plasmáticos de proteína C-reativa e outras citocinas pró-inflamatórias como a Endotelina 1A e B, Interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleucina 2 (IL-2), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 18 (IL-18) e seus receptores solúveis como o receptor solúvel de IL-6 (sIL-6R). A maioria dessas citocinas possui efeito sinérgico (e têm sua síntese estimulada) pela presença de TNF- $\alpha$  (55, 56, 59). Há também um aumento de Interleucina 10 (IL-10) que possui claros efeitos antiinflamatórios e reduz significativamente a produção de TNF- $\alpha$  induzido pelo LPS em células mononucleares de indivíduos com Insuficiência Cardíaca (60).

As moléculas de adesão também aparecem associadas à Insuficiência Cardíaca: a molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1), molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1), L-seletina e P-seletina aparecem em concentrações séricas aumentadas. Estas moléculas auxiliam no processo de marginalização e rolamento leucocitário que está relacionado ao processo inflamatório (61, 62).

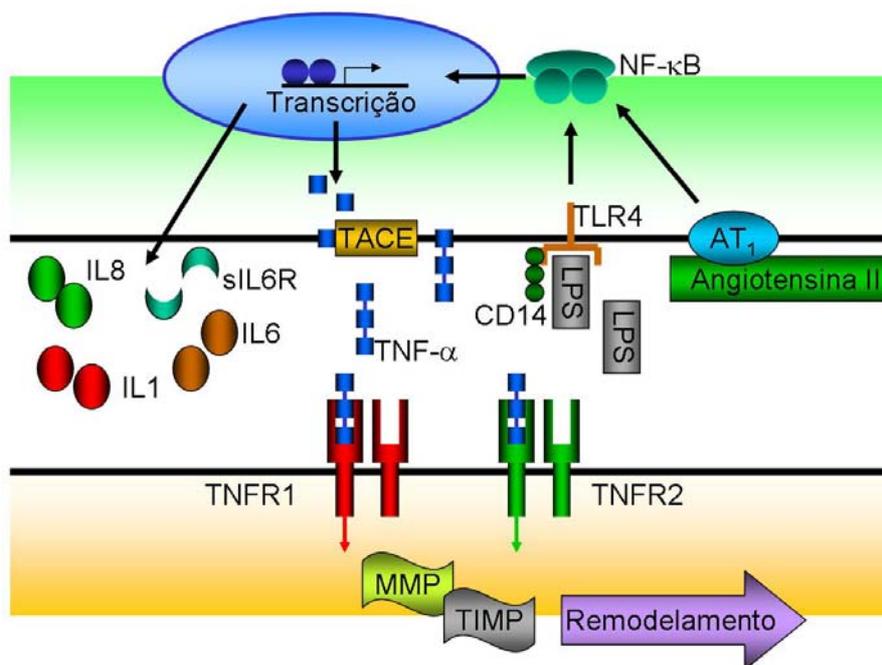


Figura 1 – Esquema do estímulo inflamatório na Insuficiência Cardíaca. AT<sub>1</sub>: Receptor da Angiotensina II tipo 1; IL: Interleucina; LPS: Lipopolissacarídeo; MMP: Matriz Metaloproteinase; TIMP: Inibidor da MMP tecidual; NF-κB: Fator Nuclear κB; sIL6R: Receptor Solúvel da IL-6; TACE: Enzima Conversora de TNF-α; TLR4: Receptor "toll-like"; TNF-α: Fator de Necrose Tumoral α; TNFR: Receptor de TNF-α.

Existe uma associação significativa entre os percentis mais elevados de TNF-α, IL-6, TNFR1 e TNFR2 circulantes e a maior incidência de mortalidade. Os níveis de TNF-α, IL-6, receptor solúvel de IL-6, TNFR1 e TNFR2 apresentam, ainda, níveis mais elevados em pacientes com Insuficiência Cardíaca de origem isquêmica. Este fato sugere uma maior associação desta etiologia com o processo inflamatório, que poderia estar correlacionado ao processo de aterogênese (63).

Existe uma nítida interação entre o eixo inflamatório e o eixo neuro-hormonal. A angiotensina II, por meio do receptor AT<sub>1</sub>, estimula o NF-κB, com conseqüente aumento da transcrição e liberação de IL-6, IL-8 (64). É possível que o remodelamento também tenha uma destas vias comuns de ativação e que citocinas como o TNF-α exerçam sua atividade também por meio de alterações da matriz extracelular. Estas alterações se manifestam com aumento de marcadores da síntese e degradação do colágeno como as Matriz Metaloproteinases (MMPs), Inibidores de Matriz Metaloproteinases Teciduais (TIMPs) e de peptídeo N-terminal do colágeno III, que apresentam correlação negativa com a distância caminhada em indivíduos com Insuficiência Cardíaca (59).

### 1.2.3.1 Alvos Terapêuticos Sobre o Eixo Inflamatório

Conhecida a associação entre a ativação inflamatória e a Insuficiência Cardíaca, seria lógico procurar potenciais alvos terapêuticos, como aconteceu com o eixo neuro-hormonal. Desta forma, nos últimos cinco anos, diferentes ensaios clínicos foram desenvolvidos com esta finalidade.

Tendo em vista o papel do TNF- $\alpha$  na gênese e perpetuação da inflamação, o seu antagonismo poderia reduzir o processo de remodelamento, melhorar a função ventricular e reduzir a mortalidade. Os estudos que buscaram antagonizar o TNF- $\alpha$  apresentaram, todavia, resultados desapontadores. O estudo *Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure* (ATTACH) randomizou pacientes para receber placebo ou Infliximab, um anticorpo monoclonal do TNF- $\alpha$ . Os pacientes que receberam o anticorpo monoclonal não apresentaram diferença significativa na incidência do desfecho primário (um escore composto que visava avaliar a mudança no perfil clínico em 14 semanas). Além disso, apesar de haver uma redução nos níveis de PCR e IL-6, a incidência de morte ou hospitalização foi significativamente maior no grupo que recebeu a terapia anti-TNF- $\alpha$  na dose de 10mg/kg (65). O ensaio clínico *Randomized Etanercept Worldwide Evaluation* (RENEWAL) avaliou o uso do Etanercept em dois subestudos: o *Research into Etanercept Cytokine Antagonism in Ventricular Dysfunction* (RECOVER) e o *Randomized Etanercept North American Strategy to Study Antagonism of Cytokines* (RENAISSANCE). O Etanercept é um receptor de TNF recombinante que se liga ao TNF- $\alpha$  e o inativa. Assim como no ATTACH, a terapia anti-TNF- $\alpha$  mostrou-se ineficaz: não houve diferenças significativas na incidência de morte ou hospitalização entre os grupos Etanercept e placebo (66). Dentre as possíveis razões para a falha da terapia anti-TNF- $\alpha$  foram apontados: o possível efeito tóxico direto dos antagonistas, uma possível potencialização do efeito do TNF- $\alpha$ , uma dose não adequada, o fato de que os antagonistas não conseguem bloquear completamente o processo inflamatório ou que o aumento de citocinas poderia ser um mecanismo apenas adaptativo (65, 66). A ação sobre outras citocinas também apareceu em outros ensaios clínicos como o *Endothelin<sub>A</sub> Receptor Antagonist Trial in Heart Failure* (EARTH), que randomizou pacientes com Insuficiência Cardíaca para receber diferentes doses de Darusentan, um antagonista da endotelina<sub>A</sub>. O Darusentan em diferentes doses, contudo,

também não se mostrou melhor que o placebo quando avaliados o volume diastólico final, melhora na distância percorrida no teste da caminhada de 6 minutos ou classe funcional. (67) Um outro alvo terapêutico estudado foi a inibição seletiva da Matriz Metaloproteinase (MMP) com o PG-116800. Na teoria, a inibição da MMP poderia reduzir o remodelamento ocorrido após o infarto. O estudo *Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling* (PREMIER) mostrou, todavia, que também o PG-116800 não alterou o curso do remodelamento no pós-infarto: após 90 dias do evento isquêmico o volume diastólico final e a fração de ejeção ventricular não foram significativamente diferentes do grupo que recebeu o placebo. O inibidor da MMP, além disso, aumentou a incidência de dispnéia, eventos gastrointestinais e rigidez articular. (68)

Apesar do insucesso dos grandes ensaios clínicos que avaliaram a ação de antagonistas específicos de diferentes passos do eixo inflamatório, alguns pequenos estudos que utilizaram agentes antiinflamatórios e imunomoduladores inespecíficos mostraram-se mais promissores. Um estudo não controlado que avaliou a talidomida em pacientes com Insuficiência Cardíaca foi um deles: conhecida por propriedades antiinflamatórias e anti-oncogênicas, a talidomida promoveu um aumento significativo da fração de ejeção ventricular e uma redução significativa dos níveis de TNF- $\alpha$  plasmático após seis semanas de tratamento (69). Um outro pequeno ensaio clínico randomizado avaliou a ação da pentoxifilina em pacientes com Insuficiência Cardíaca isquêmica. Houve uma redução da classe funcional e aumento significativo da fração de ejeção ventricular, além de redução dos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , PCR e pró-BNP quando comparado com o grupo que recebeu placebo. A redução dos níveis de TNF- $\alpha$  é consequência de uma redução na transcrição, ao contrário da ação direta do Etanercept ou do anticorpo monoclonal, por exemplo (70). O metotrexato em baixas doses, por sua vez, quando utilizado em pacientes com Insuficiência Cardíaca de todas as etiologias, promoveu uma redução significativa nos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-6, ICAM-1, PCR e aumento significativo da citocina antiinflamatória IL-10. O metotrexato mostrou também uma melhora da classe funcional e aumento na distância percorrida no teste da caminhada de 6 minutos. (71)

### 1.3 METOTREXATO

#### 1.3.1 Metotrexato como Antiinflamatório

A aminopterina, um precursor do metotrexato, foi inicialmente obtida a partir do ácido pteroilglutâmico na década de 40 (72). Na mesma década surgiram descrições de seu uso no tratamento da leucemia e de outros tumores, apresentando resultados animadores (73). Além do efeito anti-neoplásico, o metotrexato mostrou benefício clínico significativo em diversas patologias inflamatórias: na artrite reumatóide em doses de 7,5 a 25 mg por semana (74); na artrite reumatóide juvenil, na dose de 10 a 20 mg por metro quadrado de superfície corporal (75); na artrite psoriática (em doses parenterais altas) e na doença de Crohn refratária, com doses de 25 mg por semana (76, 77). Há também evidências de que o metotrexato pode atuar como droga poupadora de corticóides na asma (78).

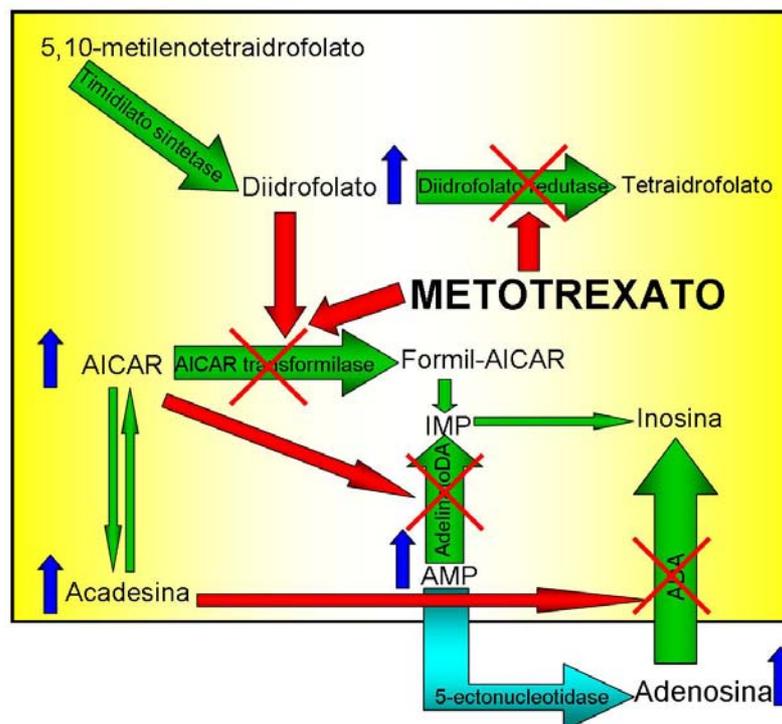


Figura 2 – Esquema da ação do metotrexato. Acadesina: 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleosídeo; ADA: Adenosina-deaminase; Adenilato-DA: Adenilato-deaminase; AICAR: 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo; AMP: Adenosina-monofosfato; IMP: Inosina-monofosfato.

Classicamente o metotrexato é um inibidor da enzima diidrofolato redutase. Com a inibição desta enzima, há um acúmulo de diidrofolato (sintetizado através da timidilato sintetase a partir de 5,10-metilenotetraidrofolato). Além disso, deixa de ser produzido o tetraidrofolato, produto da reação catalisada pela diidrofolato sintetase que é cofator para a

produção de purinas e pirimidinas. O acúmulo de diidrofolato reconhecidamente inibe a enzima 5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo transformilase (AICAR transformilase) (79). A ação do metotrexato sobre a diidrofolato redutase possivelmente é importante no tratamento do câncer, todavia não há indícios de que seja realmente importante no tratamento antiinflamatório, já que em doses baixas não há leucopenia (por redução da síntese de DNA) e a suplementação com folato não reduz os efeitos antiinflamatórios (80). O metotrexato e seus metabólitos de poliglutamato mostram-se respectivamente como inibidor não competitivo e inibidor competitivo da AICAR transformilase. Com a inibição da AICAR transformilase, há um acúmulo de 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleotídeo (AICAR) e 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribosídeo (conhecida como acadesina, um precursor do AICAR), que deixam de ser convertidos em formil-AICA ribonucleotídeo e, por sua vez, em inosina-monofosfato (IMP). A acadesina inibe a adenosina deaminase, que promove a conversão de adenosina em inosina, resultando em um acúmulo de adenosina. O AICAR inibe a adenilato deaminase, que converte adenosina monofosfato (AMP) em IMP, resultando em aumento dos níveis de AMP. (81) A AMP, por sua vez, pode ser defosforilada em adenosina pela enzima ecto-5'-nucleotidase no meio extracelular. Este possivelmente é o mecanismo mais importante do aumento dos níveis de adenosina no tratamento com metotrexato (Figura 2) (82). Desta forma, a ação da adenosina (principalmente sobre os receptores  $A_2$ ) é que, em última análise, promove os efeitos antiinflamatórios do metotrexato. Estudos experimentais corroboram estes dados ao demonstrar o aumento de liberação de adenosina em fibroblastos e células endoteliais tratados com metotrexato. Além disso, há evidências de que o metotrexato promova uma redução da adesão neutrofílica e redução dos leucócitos no exsudato por meio do aumento de adenosina (83, 84).

Estudos demonstram que a adenosina, por sua vez, promove uma redução dose-dependente da liberação de IL-6 e IL-8 por células endoteliais humanas expostas ao tratamento com IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e LPS. A utilização de um inibidor da adenosina-deaminase potencializa o efeito da adenosina e, mesmo isoladamente reduz a liberação de IL-6 e IL-8. A adenosina também promove uma atenuação da expressão de moléculas de E-seletina e VCAM. A utilização de adenosina também inibe o aumento da expressão de ICAM e da

liberação de IL-12, TNF- $\alpha$  e Interferon Gama (INF- $\gamma$ ). Apesar de existir evidências de que a estimulação de receptores A<sub>2A</sub> promove efeitos antiinflamatórios similares ao da adenosina, a estimulação de outros receptores como A<sub>1</sub> parece ter efeitos controversos (85, 86).

### 1.3.2 Ações Cardiovasculares do Metotrexato

O estudo transversal *Questionnaires in Standard Monitoring Patients with Rheumatoid Arthritis* (QUEST-RA) demonstrou recentemente que pacientes com artrite reumatóide, que receberam um ano de terapia com metotrexato, quando comparados com aqueles que nunca usaram, apresentaram uma redução de 15% no risco de eventos cardiovasculares e 18% de infarto agudo do miocárdio (87). No ano de 2006 um pequeno ensaio clínico randomizado já havia demonstrado a potencial ação cardiovascular do metotrexato em pacientes com insuficiência cardíaca de todas as etiologias: o grupo randomizado para receber a droga apresentou uma significativa melhora da capacidade física e dos marcadores inflamatórios (71).

Em humanos, a utilização de 15 mg por semana de metotrexato por 12 semanas aumenta significativamente o efeito vasodilatador promovido pela adenosina e pelo dipiridamol. Além disso, há uma redução da atividade da adenosina deaminase linfocitária. A adenosina é um conhecido promotor de vasodilatação coronariana: quando administrada de forma intracoronária promove uma vasodilatação coronariana dose-dependente semelhante à promovida pela papaverina, sem os mesmos efeitos colaterais. A infusão endovenosa também promove um aumento da velocidade de fluxo e uma redução da resistência coronariana de forma dose-dependente, em pacientes com ou sem lesão coronariana. O metotrexato, todavia, promove um aumento significativo da concentração sérica de homocisteína. Este aumento estaria associado a uma interferência do metotrexato sobre a remetilação da homocisteína dependente do folato (88, 89). O aumento da homocisteína sérica está associado a um aumento do dano endotelial e aumento do risco cardiovascular. A tentativa de reduzir a homocisteína em pacientes com infarto do miocárdio prévio, todavia, mostrou-se inefetiva e pode ser inclusive prejudicial (90).

O metotrexato, bem como seu derivado MX-68 reduzem significativamente a área de infarto induzida experimentalmente pela ligadura da artéria descendente anterior em cães.

Este efeito parece permanecer mesmo após iniciada a reperfusão e é bloqueado com a utilização do antagonista de adenosina 8-SPT (8-sulfofenilteofilina), o que prova que a ação anti-isquêmica do metotrexato e de seu derivado é fruto de uma ação da adenosino-dependente (91). Da mesma maneira, o pré-tratamento com adenosina (que aparece em níveis aumentados no tratamento com metotrexato) em modelos animais promove aumento dos níveis de adenosina no sangue venoso coronariano, aumenta o fluxo coronariano em miocárdico isquêmicos de cães, reduz a incidência de taquicardias ventriculares, reduz o acúmulo de granulócitos. e amplia a rede colateral coronariana (92). Estudos em animais sugerem ainda que a adenosina reduz a liberação de noradrenalina no miocárdio isquêmico e reduz o processo tromboembólico por inibição da agregação plaquetária. (93)

A ativação específica de receptores  $A_{2A}$  iniciada no período de reperfusão após infarto experimentalmente induzido promove o aumento do fluxo coronariano e a redução da massa necrótica em cães (94). A ação anti-isquêmica da adenosina não parece, todavia, ser apenas por estimulação do receptor  $A_{2A}$ : a estimulação realizada após infarto induzido em ratos com um análogo da adenosina e com um inibidor da sua degradação da adenosina (dipiridamol e 2-cloroadenosina, respectivamente) promovem uma redução do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo, aumento da fração de encurtamento do ventrículo esquerdo, bloqueio da deposição de colágeno em áreas não infartadas, redução da hipertrofia de áreas não infartadas, redução do aumento de colágeno tipo I, do Fator de Crescimento Tumoral Beta 1 (TGF- $\beta$ 1), MMP-2, TIMP-1 e Peptídeo Natriurético tipo B (BNP). O antagonista inespecífico da adenosina 8-SPT e o antagonista específico do receptor  $A_{2B}$  (MRS1754) impedem estes efeitos, o que sugere possível efeito protetor da estimulação  $A_{2B}$ . Desta forma, este estudo demonstrou que, em animais, a estimulação adenosinérgica promove uma melhora importante de diferentes parâmetros sugestivos de remodelamento cardíaco e de evolução para insuficiência cardíaca no pós-infarto. Estes efeitos parecem ligados ao estímulo do receptor  $A_{2B}$  (95). Outro estudo mostra que, na reperfusão, a ativação específica de receptores  $A_3$  reduz a área de infarto experimentalmente induzido em ratos. A estimulação  $A_3$  também promove uma redução da apoptose e de necrose em miócitos isolados. Ao contrário de dados prévios, todavia, esse estudo falhou em demonstrar redução da área de infarto com a ativação do receptor  $A_{2A}$  (96).

### 1.3.3 Efeitos Colaterais da Terapia com Metotrexato

Os potenciais efeitos colaterais do metotrexato são importantes causas de abandono da terapia. Dados de um ensaio clínico que avaliou pacientes com artrite reumatóide que receberam metotrexato na dose de 7,5 a 25mg por semana associado à suplementação com folato mostraram uma incidência de: 33% de náuseas, 27% de cefaléia, 27% de astenia, 23% de tonturas, 20% de alterações dermatológicas, 16% de dor abdominal, 15% de estomatite, 11% de tosse, 9% de diarreia, 8% de alopecia, 4% de elevação dos valores de TGP. As reações mais graves, como com alterações gastrointestinais severas, leucopenia, plaquetopenia, pneumonite e piora da função renal apresentaram incidências que não ultrapassaram 5%. Neste estudo, que avaliou 48 semanas de tratamento, a dose cumulativa média de metotrexato foi de 656mg (97). A suplementação com ácido fólico ou ácido folínico em pacientes que recebem terapia com metotrexato é justificada pelo significativo efeito sobre a redução de efeitos colaterais, como os efeitos gastrointestinais, sem alteração do efeito antiinflamatório (80).

A incidência de eventos adversos está bem definida, da mesma forma que a maneira de preveni-los. Existe, contudo, poucos dados sobre esta incidência em tratamentos por curto período de tempo e em baixas doses (como 7,5mg por semana). Um dos poucos estudos a descrever os eventos em tal situação foi o ensaio clínico que avaliou o metotrexato na Insuficiência Cardíaca na dose de 7,5mg por semana por 12 semanas (apesar de não realizar a suplementação de folato): em doses baixas e por curto período de tempo, a incidência de efeitos adversos é bastante inferior à encontrada em outros estudos, com 5,7% de náuseas, 5,7% de vômitos, 5,7% de aumento moderado de TGP e 2,9% de piora da função renal. Neste ensaio clínico a dose cumulativa média de metotrexato foi de 82,5mg (71).

## 2 JUSTIFICATIVA

Apesar da evolução na terapia da Insuficiência Cardíaca, o número de internações, a mortalidade e os custos hospitalares persistem elevados. A cardiopatia isquêmica permanece como principal fator etiológico (6-8).

Existem evidências que comprovam a presença de alterações inflamatórias na Insuficiência Cardíaca (54). Grandes ensaios clínicos falharam em mostrar benefício do bloqueio de TNF- $\alpha$ . Pequenos ensaios que utilizaram outros antiinflamatórios como o metotrexato, contudo, apresentaram resultados animadores (65, 66, 70, 71). O metotrexato possui benefício conhecido em diversas patologias e sua atividade antiinflamatória é creditada ao aumento de adenosina extracelular (73-77, 83, 84).

Tendo em vista a importância da Insuficiência Cardíaca (principalmente isquêmica), a lacuna terapêutica sobre o eixo inflamatório e os potenciais benefícios do metotrexato, um ensaio clínico randomizado que avalie esta droga em pacientes com disfunção sistólica isquêmica é imperativo. A hipótese aventada é que o metotrexato aumentaria a adenosina extracelular que, por sua vez, reduziria a ativação inflamatória na Insuficiência Cardíaca através da estimulação de diferentes receptores, com conseqüente redução do remodelamento cardíaco e melhora clínica. Esses benefícios seriam mais evidentes na Insuficiência Cardíaca Isquêmica por dois motivos: a etiologia isquêmica parece possuir uma associação mais forte com a ativação inflamatória (63); o aumento de adenosina promovido pelo metotrexato poderia ativar receptores de adenosina que reduziriam as áreas de miocárdio hibernado e atordado, reduziria as áreas de isquemia, o estresse oxidativo, a adesão plaquetária e a ativação adrenérgica durante a isquemia (24-28, 93).

A dose de metotrexato utilizada no presente estudo foi de 7,5mg por semana por 12 semanas. Como não se dispõe de dados claros de sua utilização na disfunção sistólica isquêmica, emprega-se a posologia para início do tratamento da artrite reumatóide (que é de 7,5 mg por semana, semelhante à dose descrita em outras patologias). Os benefícios de sua utilização começam a surgir no período de 1 a 2 meses. Obviamente o metotrexato não é uma droga isenta de efeitos colaterais, contudo os potenciais benefícios podem suplementar os eventos adversos. Além disso, o estudo empregará a reposição de folato para reduzir a incidência dos mesmos (74).

O desfecho primário avaliado no presente ensaio clínico foi a melhora no teste da caminhada de seis minutos. Existem outras formas de mensurar a gravidade do quadro, como a classificação de *New York Heart Association* (NYHA). Estas são, entretanto, subjetivas e imprecisas. O teste da caminhada de 6 minutos permite avaliar de forma objetiva, fácil e barata o processo de melhora ou piora da Insuficiência Cardíaca com uma correlação negativa com a classe funcional NYHA. Além disso, permite apontar um pior prognóstico entre os pacientes que caminham menos de 340 metros (98, 99). Para evitar potenciais vieses, utilizou-se a padronização para realização do teste recomendada pela Sociedade Torácica Americana (100). A avaliação dos desfechos secundários como a mudança no escore obtido no questionário *Short Form-36* (SF-36) e as alterações nos níveis plasmáticos de Proteína C reativa, são de grande importância tendo em vista que ambos também são fatores prognósticos (101, 102).

Como forma de preservar a idoneidade do estudo, procedeu-se ao registro internacional no *ClinicalTrials.gov* sob o número NCT00759811.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a capacidade de exercício físico através do teste da caminhada em pacientes com Insuficiência Cardíaca de etiologia isquêmica submetidos ao tratamento com metotrexato em relação ao placebo por 12 semanas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os índices de qualidade de vida na versão brasileira do questionário *Short Form-36* (SF-36) antes e após o tratamento;
- Comparar a classe funcional (*New York Heart Association*) pré e pós-tratamento;
- Avaliar níveis séricos Proteína C Reativa (PCR) antes e após o tratamento;
- Comparar a incidência de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, necessidade de revascularização miocárdica, necessidade de hospitalização por piora da Insuficiência Cardíaca ou mortalidade após 12 semanas de tratamento;
- Avaliar a incidência de possíveis efeitos colaterais: alterações nos níveis de hematócrito, hemoglobina, leucócitos e plaquetas; alterações nos níveis de transaminases; alterações nos níveis de creatinina plasmática; efeitos gastrointestinais (úlceras orais, diarreia, náuseas e vômitos); alterações dermatológicas (rash, prurido e alopecia) e efeitos pulmonares (pneumonite e broncoinfecção).

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA BASE TEÓRICA

1. Katz AM, Katz PB. Diseases of the heart in the works of Hippocrates. *Br Heart J.* 1962 May;24:257-64.
2. Davis RC, Hobbs FD, Lip GY. ABC of heart failure. History and epidemiology. *Bmj.* 2000 Jan 1;320(7226):39-42.
3. Baig MK, Mahon N, McKenna WJ, Caforio AL, Bonow RO, Francis GS, et al. The pathophysiology of advanced heart failure. *Am Heart J.* 1998 Jun;135(6 Pt 2 Su):S216-30.
4. Gottschall CAM. O Coração Como Bomba. *Dinâmica Cardiovascular: do Miócito à Maratona.* São Paulo: Atheneu; 2005. p. 141-61.
5. Ho KK, Anderson KM, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation.* 1993 Jul;88(1):107-15.
6. Moreira DM, Coutinho M. Insuficiência cardíaca: mortalidade intra-hospitalar e sobrevivência de 1 ano. *ACM arq catarin med.* 2006;35(1):22-8.
7. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2008 Jan 29;117(4):e25-146.
8. Datasus: Informações de Saúde [Base de dados da Internet]. Ministério da Saúde. 2008 [02/10/2008]. Available from: <http://www.datasus.gov.br>.
9. Francis GS. Pathophysiology of chronic heart failure. *Am J Med.* 2001 May 7;110 Suppl 7A:37S-46S.
10. Braunwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation.* 2000 Nov 14;102(20 Suppl 4):IV14-23.
11. Crawford JH, McIntosh JF. Observations on the Use of Novasurol in Edema Due to Heart Failure. *J Clin Invest.* 1925 Apr;1(4):333-58.
12. Giannuzzi P, Temporelli PL, Corra U, Tavazzi L. Antiremodeling effect of long-term exercise training in patients with stable chronic heart failure: results of the Exercise in Left Ventricular Dysfunction and Chronic Heart Failure (ELVD-CHF) Trial. *Circulation.* 2003 Aug 5;108(5):554-9.
13. Wilkins MR, Kendall MJ, Wade OL. William Withering and digitalis, 1785 to 1985. *Br Med J*

- (Clin Res Ed). 1985 Jan 5;290(6461):7-8.
14. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. The Digitalis Investigation Group. *N Engl J Med*. 1997 Feb 20;336(8):525-33.
  15. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, Ivanhoe RJ, DiBianco R, Zeldis SM, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N Engl J Med*. 1991 Nov 21;325(21):1468-75.
  16. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, Cinquegrani MP, Feldmanmd AM, Francis GS, et al. ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation*. 2001 Dec 11;104(24):2996-3007.
  17. Follath F, Cleland JG, Just H, Papp JG, Scholz H, Peuhkurinen K, et al. Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO study): a randomised double-blind trial. *Lancet*. 2002 Jul 20;360(9328):196-202.
  18. Mebazaa A, Nieminen MS, Packer M, Cohen-Solal A, Kleber FX, Pocock SJ, et al. Levosimendan vs dobutamine for patients with acute decompensated heart failure: the SURVIVE Randomized Trial. *JAMA*. 2007 May 2;297(17):1883-91.
  19. Kirkendall WM. Clinical evaluation of chlorothiazide. *Circulation*. 1959 Jun;19(6):933-41.
  20. Stason WB, Cannon PJ, Heinemann HO, Laragh JH. Furosemide. A clinical evaluation of its diuretic action. *Circulation*. 1966 Nov;34(5):910-20.
  21. Konstam MA, Gheorghiade M, Burnett JC, Jr., Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, et al. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial. *JAMA*. 2007 Mar 28;297(12):1319-31.
  22. Costanzo MR, Guglin ME, Saltzberg MT, Jessup ML, Bart BA, Teerlink JR, et al. Ultrafiltration versus intravenous diuretics for patients hospitalized for acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Feb 13;49(6):675-83.
  23. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and

- their clinical implications: part 2. *Circulation*. 2001 Dec 18;104(25):3158-67.
24. Glover DK, Ruiz M, Takehana K, Petruzella FD, Rieger JM, Macdonald TL, et al. Cardioprotection by adenosine A2A agonists in a canine model of myocardial stunning produced by multiple episodes of transient ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Jun;292(6):H3164-71.
25. Marzilli M, Orsini E, Marraccini P, Testa R. Beneficial effects of intracoronary adenosine as an adjunct to primary angioplasty in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2000 May 9;101(18):2154-9.
26. Wei M, Kuukasjarvi P, Laurikka J, Honkonen EL, Kaukinen S, Laine S, et al. Cardioprotective effect of adenosine pretreatment in coronary artery bypass grafting. *Chest*. 2001 Sep;120(3):860-5.
27. Lee CH, Low A, Tai BC, Co M, Chan MY, Lim J, et al. Pretreatment with intracoronary adenosine reduces the incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention: a prospective randomized study. *Eur Heart J*. 2007 Jan;28(1):19-25.
28. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol*. 2005 Jun 7;45(11):1775-80.
29. Dzau VJ, Colucci WS, Hollenberg NK, Williams GH. Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. *Circulation*. 1981 Mar;63(3):645-51.
30. Cohn JN, Archibald DG, Ziesche S, Franciosa JA, Harston WE, Tristani FE, et al. Effect of vasodilator therapy on mortality in chronic congestive heart failure. Results of a Veterans Administration Cooperative Study. *N Engl J Med*. 1986 Jun 12;314(24):1547-52.
31. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med*. 1987 Jun 4;316(23):1429-35.
32. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med*. 1991 Aug 1;325(5):293-302.

33. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med.* 1992 Sep 3;327(10):685-91.
34. Cohn JN, Johnson G, Ziesche S, Cobb F, Francis G, Tristani F, et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med.* 1991 Aug 1;325(5):303-10.
35. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Jr., Ferdinand K, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med.* 2004 Nov 11;351(20):2049-57.
36. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ, Jr., Cuddy TE, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med.* 1992 Sep 3;327(10):669-77.
37. Foy SG, Crozier IG, Turner JG, Richards AM, Frampton CM, Nicholls MG, et al. Comparison of enalapril versus captopril on left ventricular function and survival three months after acute myocardial infarction (the "PRACTICAL" study). *Am J Cardiol.* 1994 Jun 15;73(16):1180-6.
38. Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliassen P, Lyngborg K, et al. A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Dec 21;333(25):1670-6.
39. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial--the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet.* 2000 May 6;355(9215):1582-7.
40. Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med.* 2001 Dec 6;345(23):1667-75.
41. Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, Michelson EL, et al. Effects of candesartan on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the CHARM-Overall programme. *Lancet.* 2003 Sep 6;362(9386):759-66.

42. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*. 1999 Sep 2;341(10):709-17.
43. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003 Apr 3;348(14):1309-21.
44. A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). CIBIS Investigators and Committees. *Circulation*. 1994 Oct;90(4):1765-73.
45. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet*. 1999 Jan 2;353(9146):9-13.
46. Willenheimer R, van Veldhuisen DJ, Silke B, Erdmann E, Follath F, Krum H, et al. Effect on survival and hospitalization of initiating treatment for chronic heart failure with bisoprolol followed by enalapril, as compared with the opposite sequence: results of the randomized Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS) III. *Circulation*. 2005 Oct 18;112(16):2426-35.
47. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med*. 1996 May 23;334(21):1349-55.
48. Packer M, Colucci WS, Sackner-Bernstein JD, Liang CS, Goldscher DA, Freeman I, et al. Double-blind, placebo-controlled study of the effects of carvedilol in patients with moderate to severe heart failure. The PRECISE Trial. Prospective Randomized Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise. *Circulation*. 1996 Dec 1;94(11):2793-9.
49. Randomised, placebo-controlled trial of carvedilol in patients with congestive heart failure due to ischaemic heart disease. Australia/New Zealand Heart Failure Research Collaborative Group. *Lancet*. 1997 Feb 8;349(9049):375-80.
50. Chizzola PR, Freitas HF, Caldas MA, da Costa JM, Meneghetti C, Marinho NV, et al. Effects of carvedilol in heart failure due to dilated cardiomyopathy. Results of a double-blind randomized placebo-controlled study (CARIBE study). *Arq Bras Cardiol*. 2000 Mar;74(3):233-42.
51. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, et al. Effect of carvedilol

- on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001 May 31;344(22):1651-8.
52. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet*. 1999 Jun 12;353(9169):2001-7.
53. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *Lancet*. 2003 Jul 5;362(9377):7-13.
54. Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail*. 1996 Sep;2(3):243-9.
55. El-Menyar AA. Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *J Card Fail*. 2008 Feb;14(1):61-74.
56. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999 May 29;353(9167):1838-42.
57. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart*. 2004 Apr;90(4):464-70.
58. Genth-Zotz S, von Haehling S, Bolger AP, Kalra PR, Wensel R, Coats AJ, et al. Pathophysiologic quantities of endotoxin-induced tumor necrosis factor-alpha release in whole blood from patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 2002 Dec 1;90(11):1226-30.
59. Radauceanu A, Ducki C, Virion JM, Rossignol P, Mallat Z, McMurray J, et al. Extracellular matrix turnover and inflammatory markers independently predict functional status and outcome in chronic heart failure. *J Card Fail*. 2008 Aug;14(6):467-74.
60. Bolger AP, Sharma R, von Haehling S, Doehner W, Oliver B, Rauchhaus M, et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 2002 Aug 15;90(4):384-9.
61. Tousoulis D, Homaei H, Ahmed N, Asimakopoulos G, Zouridakis E, Toutouzas P, et al. Increased plasma adhesion molecule levels in patients with heart failure who have

- ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy. *Am Heart J.* 2001 Feb;141(2):277-80.
62. Andreassen AK, Nordoy I, Simonsen S, Ueland T, Muller F, Froland SS, et al. Levels of circulating adhesion molecules in congestive heart failure and after heart transplantation. *Am J Cardiol.* 1998 Mar 1;81(5):604-8.
63. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation.* 2001 Apr 24;103(16):2055-9.
64. Skurk T, van Harmelen V, Hauner H. Angiotensin II stimulates the release of interleukin-6 and interleukin-8 from cultured human adipocytes by activation of NF-kappaB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Jul;24(7):1199-203.
65. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation.* 2003 Jul 1;107(25):3133-40.
66. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation.* 2004 Apr 6;109(13):1594-602.
67. Anand I, McMurray J, Cohn JN, Konstam MA, Notter T, Quiza K, et al. Long-term effects of darusentan on left-ventricular remodelling and clinical outcomes in the EndothelinA Receptor Antagonist Trial in Heart Failure (EARTH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004 Jul 24-30;364(9431):347-54.
68. Hudson MP, Armstrong PW, Ruzyllo W, Brum J, Cusmano L, Krzeski P, et al. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jul 4;48(1):15-20.
69. Gullestad L, Semb AG, Holt E, Skardal R, Ueland T, Yndestad A, et al. Effect of thalidomide in patients with chronic heart failure. *Am Heart J.* 2002 Nov;144(5):847-50.
70. Sliwa K, Woodiwiss A, Kone VN, Candy G, Badenhorst D, Norton G, et al. Therapy of ischemic cardiomyopathy with the immunomodulating agent pentoxifylline: results of a

- randomized study. *Circulation*. 2004 Feb 17;109(6):750-5.
71. Gong K, Zhang Z, Sun X, Zhang X, Li A, Yan J, et al. The nonspecific anti-inflammatory therapy with methotrexate for patients with chronic heart failure. *Am Heart J*. 2006 Jan;151(1):62-8.
72. Seeger DR, Cosulich DB, Smith Jr JM, Hultquist ME. Analogs of Pteroylglutamic Acid. III. 4-Amino Derivatives. *Journal of the American Chemical Society*. 1949;71(5):1753-8.
73. Farber S. Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancer. *Blood*. 1949 Feb;4(2):160-7.
74. Suarez-Almazor ME, Belseck E, Shea B, Wells G, Tugwell P. Methotrexate for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000(2):CD000957.
75. Takken T, Van Der Net J, Helders PJ. Methotrexate for treating juvenile idiopathic arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001(4):CD003129.
76. Jones G, Crotty M, Brooks P. Interventions for psoriatic arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000(3):CD000212.
77. Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005(1):CD003459.
78. Davies H, Olson L, Gibson P. Methotrexate as a steroid sparing agent for asthma in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000(2):CD000391.
79. Allegra CJ, Hoang K, Yeh GC, Drake JC, Baram J. Evidence for direct inhibition of de novo purine synthesis in human MCF-7 breast cells as a principal mode of metabolic inhibition by methotrexate. *Journal of Biological Chemistry*. 1987;262(28):13520-6.
80. Ortiz Z, Shea B, Suarez Almazor M, Moher D, Wells G, Tugwell P. Folic acid and folinic acid for reducing side effects in patients receiving methotrexate for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000(2):CD000951.
81. Baggott J, Vaughn W, Hudson B. Inhibition of 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide transformylase, adenosine deaminase and 5'-adenylate deaminase by polyglutamates of methotrexate and oxidized folates and by 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside and ribotide. *Biochem J*. 1986;236(1):193-200.
82. Morabito L, Montesinos MC, Schreiber DM, Balter L, Thompson LF, Resta R, et al. Methotrexate and Sulfasalazine Promote Adenosine Release by a Mechanism that

- Requires Ecto-5'-nucleotidase-mediated Conversion of Adenine Nucleotides. *Journal of Clinical Investigation*. 1998;101(2):295-300.
83. Cronstein BN, Eberle MA, Gruber HE, Levin RI. Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991;88(6):2441.
84. Cronstein BN, Naime D, Ostad E. The antiinflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. *J Clin Invest*. 1993 Dec;92(6):2675-82.
85. Bouma MG, van den Wildenberg FA, Buurman WA. Adenosine inhibits cytokine release and expression of adhesion molecules by activated human endothelial cells. *Am J Physiol*. 1996 Feb;270(2 Pt 1):C522-9.
86. Takahashi HK, Iwagaki H, Hamano R, Wake H, Kanke T, Liu K, et al. Effects of adenosine on adhesion molecule expression and cytokine production in human PBMC depend on the receptor subtype activated. *Br J Pharmacol*. 2007 Mar;150(6):816-22.
87. Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, Calvo-Alen J, Horslev-Petersen K, Luukkainen RK, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(2):R30.
88. Wilson RF, Wyche K, Christensen BV, Zimmer S, Laxson DD. Effects of adenosine on human coronary arterial circulation. *Circulation*. 1990 Nov;82(5):1595-606.
89. Riksen NP, Barrera P, van den Broek PH, van Riel PL, Smits P, Rongen GA. Methotrexate modulates the kinetics of adenosine in humans in vivo. *Ann Rheum Dis*. 2006 Apr;65(4):465-70.
90. Bona KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2006 Apr 13;354(15):1578-88.
91. Asanuma H, Sanada S, Ogai A, Minamino T, Takashima S, Asakura M, et al. Methotrexate and MX-68, a new derivative of methotrexate, limit infarct size via adenosine-dependent mechanisms in canine hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004 Apr;43(4):574-9.
92. Gruber HE, Hoffer ME, McAllister DR, Laikind PK, Lane TA, Schmid-Schoenbein GW, et al. Increased adenosine concentration in blood from ischemic myocardium by AICA

- riboside. Effects on flow, granulocytes, and injury. *Circulation*. 1989;80(5):1400-11.
93. Kitakaze M, Hori M, Sato H, Takashima S, Inoue M, Kitabatake A, et al. Endogenous adenosine inhibits platelet aggregation during myocardial ischemia in dogs. *Circ Res*. 1991 Nov;69(5):1402-8.
94. Jordan JE, Zhao ZQ, Sato H, Taft S, Vinten-Johansen J. Adenosine A2 receptor activation attenuates reperfusion injury by inhibiting neutrophil accumulation, superoxide generation and coronary endothelial adherence. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997 Jan;280(1):301-9.
95. Wakeno M, Minamino T, Seguchi O, Okazaki H, Tsukamoto O, Okada K, et al. Long-term stimulation of adenosine A2b receptors begun after myocardial infarction prevents cardiac remodeling in rats. *Circulation*. 2006 Oct 31;114(18):1923-32.
96. Maddock HL, Mocanu MM, Yellon DM. Adenosine A(3) receptor activation protects the myocardium from reperfusion/reoxygenation injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Oct;283(4):H1307-13.
97. van Ede AE, Laan RF, Rood MJ, Huizinga TW, van de Laar MA, van Denderen CJ, et al. Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum*. 2001 Jul;44(7):1515-24.
98. Guyatt GH, Sullivan MJ, Thompson PJ, Fallen EL, Pugsley SO, Taylor DW, et al. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Can Med Assoc J*. 1985 Apr 15;132(8):919-23.
99. Passantino A, Lagioia R, Mastropasqua F, Scrutinio D. Short-term change in distance walked in 6 min is an indicator of outcome in patients with chronic heart failure in clinical practice. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Jul 4;48(1):99-105.
100. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jul 1;166(1):111-7.
101. Rodriguez-Artalejo F, Guallar-Castillon P, Pascual CR, Otero CM, Montes AO, Garcia AN, et al. Health-related quality of life as a predictor of hospital readmission and death among patients with heart failure. *Arch Intern Med*. 2005 Jun 13;165(11):1274-9.
102. Dickstein K. C-reactive protein in ischaemic cardiomyopathy: assessing vascular risk in heart failure. *Eur Heart J*. 2005 Nov;26(21):2218-9.

## 5 ARTIGO – VERSÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA

Artigo a ser submetido à revista Journal of Cardiac Failure.

### **Título:**

EFEITOS DA TERAPIA COM METOTREXATO SOBRE A CAPACIDADE FÍSICA DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA ISQUÊMICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, CONTROLADO COM PLACEBO (ESTUDO METIS).

### **Título curto:**

METOTREXATO NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA ISQUÊMICA.

### **Palavras-Chave:**

Insuficiência Cardíaca; Isquemia Miocárdica; Metotrexato; Inflamação.

### **Autores:**

Daniel Medeiros Moreira\*, Jefferson Luís Vieira\*, Carlos Antônio Mascia Gottschall†.

\* - Médicos – Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul;

† - Doutor – Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul;

### **Endereço para correspondência:**

Daniel Medeiros Moreira

Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul – Fundação Universitária de  
Cardiologia;

Rua Princesa Isabel, 390, Santana

Porto Alegre, RS – Brasil

CEP: 90620-001

danielmedeirosmoreira@gmail.com

### **Auxílio Financeiro:**

FAPIC – Fundação de Amparo a Pesquisa do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul – Auxílio financeiro institucional.

### **Conflito de Interesses dos autores:**

Nenhum.

## 5.1 RESUMO

### 5.1.1 Fundamentos

A hipótese das citocinas comprovou a associação entre a Insuficiência Cardíaca (IC) e a inflamação e o uso de metotrexato poderia melhorar o perfil clínico de pacientes com IC principalmente de etiologia isquêmica.

### 5.1.2 Métodos e Resultados

Trata-se de um ensaio clínico randomizado duplo-cego que randomizou 50 pacientes com IC isquêmica para receber 7,5mg de metotrexato ou placebo associado a 5mg de ácido fólico por 12 semanas. O desfecho principal foi a melhora da distância no teste da caminhada de 6 minutos (6MWT). Foram também avaliados a classe funcional (NYHA), a qualidade de vida (SF-36), os níveis de proteína C reativa (PCR), a incidência de mortalidade, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, hospitalização ou necessidade de revascularização miocárdica (desfecho combinado) e eventos adversos.

A distância no 6MWT não apresentou diferença significativa entre os grupos: melhora de  $24,5 \pm 39,5$  no grupo metotrexato e  $21,3 \pm 43,7$  no grupo placebo,  $p=0,80$ . A NYHA mostrou tendência marginal de melhora entre aqueles que receberam metotrexato ( $-0,76 \pm 0,62$ ) quando comparado com placebo ( $-0,37 \pm 0,71$ ),  $p=0,06$ . O SF-36 apresentou melhora no domínio de saúde mental no grupo placebo. Não houve diferenças significativas nos níveis de PCR, na incidência do desfecho combinado ou de eventos adversos.

### 5.1.3 Conclusão

Os resultados demonstram um efeito marginal na NYHA, sem alterações significativas na distância do 6MWT e sem aparecimento de efeitos adversos.

Registro no *ClinicalTrials.gov* sob o número NCT00759811.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A Insuficiência Cardíaca Congestiva (IC) é um problema de saúde pública que acomete 2,5% da população norte-americana com mais de 20 anos (1). Apesar da evolução terapêutica das últimas décadas a mortalidade e o número de internações persistem elevados. A cardiopatia isquêmica permanece como principal fator etiológico (2).

Existe uma ativação inflamatória na IC, com aumento dos níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-2, IL-6, IL-8, receptor solúvel de IL-6, cluster de diferenciação 14 (CD14), endotelinas 1A e 1B. Esta ativação inflamatória ficou conhecida como a “hipótese das citocinas” (3-6). A magnitude do aumento das citocinas está relacionado à gravidade do quadro, sendo que a IC isquêmica apresenta níveis plasmáticos mais elevados, o que sugere uma maior associação com o processo inflamatório nesta etiologia (7).

A hipótese das citocinas promoveu uma procura por potenciais alvos terapêuticos. As tentativas de antagonizar o TNF- $\alpha$ , endotelina A e matriz metaloproteinase, todavia, mostraram-se inefetivas ou prejudiciais (8-11). Apesar do insucesso dos grandes ensaios clínicos, pequenos estudos mostraram resultados promissores com antiinflamatórios inespecíficos como a talidomida, pentoxifilina e o metotrexato (12-14).

O metotrexato promove sua ação antiinflamatória por intermédio do aumento de adenosina (15-18). Estudos experimentais e com humanos sugerem que além de reduzir a ativação inflamatória, a adenosina poderia trazer benefício para pacientes com IC isquêmica por meio da ativação de diferentes receptores da adenosina, com conseqüente redução de áreas de miocárdio hibernado e atordado, redução de áreas de isquemia, redução do estresse oxidativo e da adesão plaquetária (19-25).

Assim, este trabalho apresenta o objetivo de avaliar o efeito do tratamento por 12 semanas com metotrexato sobre a capacidade física de pacientes com IC isquêmica.

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1. Desenho do Estudo e Pacientes

Este estudo (METIS) é um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo realizado no Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil no período de dezembro de 2007 a novembro de 2008. O protocolo de pesquisa foi desenhado de acordo com a Declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética da instituição. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido de todos os pacientes antes da randomização. Todos os pacientes deveriam estar sob o tratamento ótimo para IC antes da participação.

Os critérios de inclusão foram: (1) idade entre 18 e 80 anos; (2) presença de insuficiência cardíaca com classe funcional II, III ou IV *New York Heart Association* (NYHA); (3) disfunção sistólica com fração de ejeção inferior a 45% na cineangiocoronariografia (realizada entre 1 e 6 meses); (4) lesão igual ou superior a 50% da luz em ao menos uma artéria coronária na cineangiocoronariografia (realizada entre 1 e 6 meses antes), ou presença de lesão coronariana previamente revascularizada a mais de 4 meses (cirurgia de revascularização do miocárdio ou angioplastia coronariana). Os critérios de exclusão foram: (1) infarto agudo do miocárdio nos últimos 4 meses; (2) disfunção sistólica diagnosticada somente durante uma síndrome coronariana aguda; (3) necessidade de revascularização miocárdica eletiva nas 12 semanas seguintes; (4) doença hepática (TGO ou TGP superiores ao limite normal); (5) insuficiência renal (creatinina plasmática superior a 2,0mg/dl); (6) etilismo (consumo igual ou superior a 20 doses por semana); (7) uso de drogas ilícitas; (8) artrite reumatóide ou outra doença inflamatória; (9) neoplasia; (10) doenças infecciosas; (11) hematócrito inferior a 30%; (12) uso de antiinflamatórios no último mês; (13) impossibilidade de deambulação ou de realizar o teste da caminhada de 6 minutos; (14) impossibilidade de compreender o questionário de qualidade de vida.

Por meio de um programa de computador, um pesquisador independente gerou uma randomização em blocos de quatro pacientes em uma taxa de 1:1 para receber, por 12 semanas, metotrexato 7,5mg por semana ou placebo equivalente na mesma posologia. Ambos os grupos receberam 5mg de ácido fólico por semana, com a finalidade de reduzir potenciais efeitos adversos do metotrexato (26). Antes de iniciar o tratamento, avaliou-se hemograma, transaminases, creatinina plasmática, proteína C reativa (PCR), distância no teste da caminhada de 6 minutos em corredor de 30 metros com frases padrão de estímulo (27), classe funcional (NYHA) e os escores de qualidade de vida (*Raw Scale*) segundo o protocolo *Short-Form-36* (SF-36) validado para a população brasileira (28). Após 6 semanas realizou-se uma anamnese na busca de potenciais efeitos colaterais e reavaliou-se hemograma, transaminases, creatinina plasmática. O tratamento seria suspenso na presença de alterações laboratorias consideradas severas (plaquetopenia menor que 50.000, hematócrito inferior a 18% ou creatinina superior a 2 vezes o valor basal) ou moderadas (TGP superior a 3 vezes o limite normal, plaquetas entre 50.000 e 100.000 ou hematócrito de

18 a 27%) (29). Após o término do tratamento (12 semanas) coletaram-se novo hemograma, transaminases, creatinina plasmática, PCR, avaliaram-se distância no teste da caminhada de 6 minutos, classe funcional NYHA e os escores de qualidade de vida do SF-36.

### 5.2.2 Desfechos

O desfecho primário do estudo foi a melhora na distância percorrida no teste da caminhada de 6 minutos. Os desfechos secundários foram: melhora nos escores do SF-36; melhora da classe funcional (NYHA); redução nos níveis plasmáticos de PCR; incidência do evento composto por mortalidade de todas as causas, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, hospitalização por piora da IC ou necessidade de revascularização miocárdica; incidência de eventos adversos.

Um comitê externo de segurança realizou avaliação interina dos dados quando se atingiu a randomização de metade dos pacientes, com a finalidade de detectar um possível aumento na incidência de efeitos adversos. Este comitê poderia sugerir a interrupção do estudo se necessário.

### 5.2.3 Análise Estatística

Os pacientes foram incluídos na análise segundo o princípio de intenção de tratar. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão ou mediana com amplitude interquartil quando apropriado. Variáveis contínuas foram avaliadas pelo teste *t de Student* para amostras pareadas para diferenças antes e após o tratamento e pelo teste *t de Student* para amostras independentes para diferenças entre os grupos. Diferenças no nível plasmático de PCR e nos escores do SF-36 antes e após o tratamento foram avaliadas pelo teste de *Wilcoxon* e entre os grupos pelo teste *U de Mann-Whitney*. Variáveis categóricas foram avaliadas através do teste de qui-quadrado. Consideraram-se significativos valores de  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas pelo software SPSS para Windows versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

O tamanho da amostra de 44 pacientes foi estimado com a finalidade de detectar uma diferença entre os grupos de 30 metros na distância percorrida no teste da caminhada de 6 minutos, com a previsão de perda de seguimento de 10%. Utilizou-se um nível de

significância de 5% e poder de 80%, para um teste t bicaudal.

## 5.3 RESULTADOS

### 5.3.1 Parâmetros do Estudo

Um total de 50 pacientes foram randomizados no período de Dezembro de 2007 e Setembro de 2008. Ao todo, 25 foram randomizados para receber o metotrexato e 25 para receber placebo. Foram perdidos no seguimento 3 pacientes (2 no grupo metotrexato e 1 no placebo,  $p=0,55$ ) (Figura 1). A tabela 1 apresenta as características de base dos pacientes incluídos no estudo. Não houve diferenças nas características de base dos dois grupos, exceto pela prevalência de fibrilação atrial maior no grupo metotrexato e na dose de furosemida média, que apresentou uma tendência não significativa de ser mais alta no grupo que recebeu placebo. A duração média do tratamento foi de  $11,5\pm 1,9$  semanas no grupo metotrexato e  $11,3\pm 2,4$  semanas no placebo ( $p=0,73$ ).

### 5.3.2 Desfechos

O teste da caminhada de 6 minutos pôde ser realizado antes e após o tratamento em 21 pacientes do grupo metotrexato e em 24 do grupo placebo (2 pacientes que recebiam metotrexato apresentaram desfechos secundários que impediram a realização do teste após 12 semanas). A distância média caminhada apresentou melhora significativa nos dois grupos: de  $379,9\pm 124,6$ m antes para  $404,4\pm 107,0$ m após 12 semanas nos pacientes que receberam metotrexato ( $p=0,01$ ) e  $405,6\pm 89,8$  antes para  $426,9\pm 78,5$ m após 12 semanas nos pacientes que receberam placebo ( $p=0,03$ ). As diferenças médias entre o teste da caminhada após e antes do tratamento ( $24,5\pm 39,5$ m no grupo metotrexato e  $21,3\pm 43,7$ m no grupo placebo), todavia, não foram significativamente diferentes ( $p=0,80$ ) (Figura 2).

A avaliação dos diferentes domínios do SF-36 antes e após o tratamento mostrou que pacientes randomizados para receber placebo ou metotrexato apresentaram melhora nos domínios de capacidade funcional e limitação por aspectos físicos. Os pacientes que receberam placebo apresentaram melhora significativa também nos domínios estado geral de saúde, vitalidade e saúde mental. Quando avaliadas as diferenças entre escores após e antes do tratamento, observou-se um valor significativamente maior no placebo no domínio

saúde mental (Tabela 2).

A classe funcional média também melhorou em ambos os grupos: de  $2,76 \pm 0,54$  antes para  $2,00 \pm 0,89$  após 12 semanas no grupo metotrexato ( $p < 0,001$ ) e  $2,58 \pm 0,58$  antes para  $2,21 \pm 0,83$  após 12 semanas no grupo placebo ( $p = 0,02$ ). As diferenças médias entre a classe funcional após e antes do tratamento mostraram uma tendência no limite da significância de melhora nos pacientes que receberam o metotrexato ( $-0,76 \pm 0,62$ ) quando comparada com os que receberam placebo ( $-0,37 \pm 0,71$ ) ( $p = 0,06$ ) (Figura 3).

Os níveis de PCR não apresentaram alteração significativa em nenhum dos grupos: medianas de  $2,8 \text{ mg/L}$  ( $1,8 - 5,1$ ) antes e  $3,0 \text{ mg/L}$  ( $1,5 - 6,3$ ) após no grupo metotrexato ( $p = 0,56$ ) e medianas de  $2,6 \text{ mg/L}$  ( $1,4 - 8,5$ ) antes e  $2,4 \text{ mg/L}$  ( $0,5 - 5,5$ ) após no grupo placebo ( $p = 0,16$ ). As diferenças entre os níveis de PCR após e antes do tratamento também não se mostraram diferentes entre os grupos:  $0,031 \text{ mg/L}$  ( $-1,0 - 1,8$ ) no grupo metotrexato e  $0,0 \text{ mg/L}$  ( $-2,8 - 0,3$ ) no grupo placebo ( $p = 0,19$ ).

O desfecho “combinado” ocorreu em 3 pacientes que receberam metotrexato e em 2 que receberam placebo ( $p = 0,64$ ). Estes desfechos foram representados por um óbito por dissecação de aorta abdominal, um paciente com necessidade de cirurgia de revascularização e um paciente com internação por piora da IC no grupo metotrexato e 2 pacientes com internação por piora da IC no grupo placebo. Os eventos adversos ocorreram em 7 pacientes que receberam metotrexato e 9 que receberam placebo ( $p = 0,85$ ). Os efeitos mais relatados foram náuseas (2 pacientes que recebiam metotrexato e 2 que recebiam placebo), tonturas e lipotímia (1 paciente no grupo metotrexato e 2 no placebo). Houve um caso de taquicardia ventricular sustentada sem instabilidade hemodinâmica em um paciente do grupo metotrexato. Não ocorreram alterações significativas nos níveis de hematócrito, hemoglobina, leucócitos, plaquetas, creatinina e transaminases (Tabela 3). Nenhum paciente apresentou alterações laboratoriais que indicassem suspensão do tratamento.

#### 5.4 DISCUSSÃO

O metotrexato possui reconhecidos efeitos antiinflamatórios, exercidos através do aumento dos níveis de adenosina, que atuam principalmente sobre os receptores de adenosina  $A_2$  (18). Existem evidências que sugerem o benefício do metotrexato também na

cardiopatia isquêmica e na IC: pacientes com artrite reumatóide que receberam um ano de terapia com metotrexato, quando comparados com aqueles que nunca usaram, apresentaram uma redução de 15% no risco de eventos cardiovasculares e 18% de infarto agudo do miocárdio (30); estudos em animais demonstraram que o metotrexato reduz a área de infarto induzida experimentalmente. Este efeito é bloqueado com antagonismo da adenosina. Também há evidências de redução de miocárdio necrótico com a ativação específica de receptores de adenosina  $A_{2A}$  (25, 31). Sob a luz destas evidências, este estudo (METIS) foi o primeiro a avaliar a ação do metotrexato em pacientes com insuficiência cardíaca isquêmica. Apesar de existir dados de um estudo prévio que mostram o benefício de seu uso em pacientes com insuficiência cardíaca de todas as etiologias, na IC isquêmica não houve benefício significativo (14). Uma das hipóteses para o discutível efeito do metotrexato no presente estudo é de que, ao contrário do que aconteceu nos estudos experimentais que demonstraram seu benefício, o início da terapia foi muito posterior ao período de reperfusão, quando as áreas de necrose já estavam bem estabelecidas (25). Outra possibilidade é de que a dose de metotrexato utilizada foi insuficiente para promover efeitos antiinflamatórios, o que poderia justificar a ausência de alterações significativas nos níveis plasmáticos de PCR. Não se pode descartar também o efeito coadjuvante do ácido fólico: apesar de uma meta-análise mostrar que o mesmo não altera o efeito antiinflamatório na artrite reumatóide, não há nenhuma evidência de seu efeito sobre o uso de metotrexato na insuficiência cardíaca isquêmica (26).

O desfecho primário avaliado pela melhora no teste da caminhada de 6 minutos permite avaliar de forma objetiva, fácil e barata o processo de melhora ou piora da Insuficiência Cardíaca com uma correlação negativa com a classe funcional NYHA. Além disso, permite apontar um pior prognóstico entre os pacientes que caminham menos de 340 metros (32, 33). Entretanto, uma revisão mostrou que a maioria dos ensaios clínicos que o utilizaram como desfecho não apresentaram resultados conclusivos, mesmo quando a droga utilizada mostrava benefícios sobre a redução de desfechos duros. A mesma revisão mostrou maior presença de efeitos positivos no teste da caminhada no grupo placebo em estudos pequenos, como é o caso deste estudo (34).

Os desfechos secundários, como a mudança na classe funcional (NYHA) e no

escore obtido no SF-36, são de grande importância tendo em vista que ambos também são fatores prognósticos (33, 35). Este estudo mostrou uma tendência de melhora da classe funcional nos pacientes que receberam metotrexato que beira a significância e pode não ter sido devido ao tamanho da amostra. Não há explicação para a melhora do domínio saúde mental no SF-36 do grupo placebo.

Houve ausência de diferenças significativas na incidência de efeitos colaterais nos pacientes que receberam metotrexato, quando comparado ao placebo, o que reitera a segurança da droga. Assim, na IC isquêmica na dose de 7,5mg por 12 semanas e associado à reposição de folato, esta droga se mostrou segura, com menos efeitos colaterais quando seu emprego na artrite reumatóide em que as reações mais graves, como com alterações gastrointestinais severas, leucopenia, plaquetopenia, pneumonite e piora da função renal apresentaram incidências que não ultrapassaram 5% (29). Neste estudo, as náuseas foram os efeitos adversos mais relatados e apareceram apenas em 9,5% dos pacientes que receberam metotrexato. Outros efeitos mais graves como alterações no hemograma ou na função renal não foram descritas.

Este estudo apresenta algumas limitações: o tamanho da amostra não permite verificar potenciais diferenças entre os grupos na incidência de desfechos duros como a mortalidade; assim como na artrite reumatóide, a dose ideal de metotrexato deveria ser individualizada para cada paciente, com progressivas titulações de doses, o que não foi realizado no presente estudo; a maior prevalência de fibrilação atrial no grupo metotrexato e a tendência não significativa de uma dose superior de furosemida no grupo placebo foram variáveis que podem ter prejudicado a avaliação do tratamento com metotrexato.

Em conclusão, ao contrário do que demonstraram estudos prévios em todas as etiologias, o metotrexato na dose de 7,5 mg por semana associado ao ácido fólico 5 mg por 12 semanas apresentou apenas efeito marginal, com forte tendência de melhora da classe funcional no grupo metotrexato em relação ao grupo placebo ( $p=0,06$ ). Novos estudos randomizados se fazem necessários para avaliar essa tendência e também seu possível efeito em pacientes com síndrome coronariana aguda.

## 5.5 FIGURAS E TABELAS

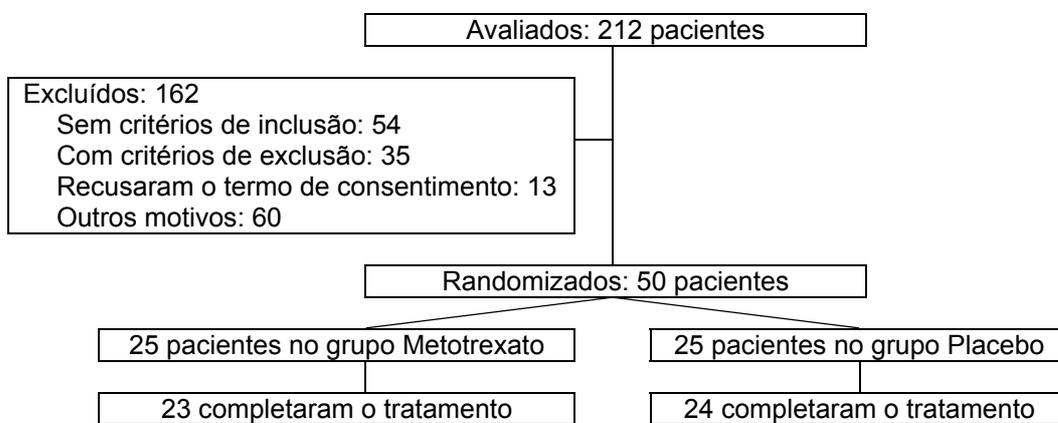


Figura 1 – Fluxo de pacientes no estudo.

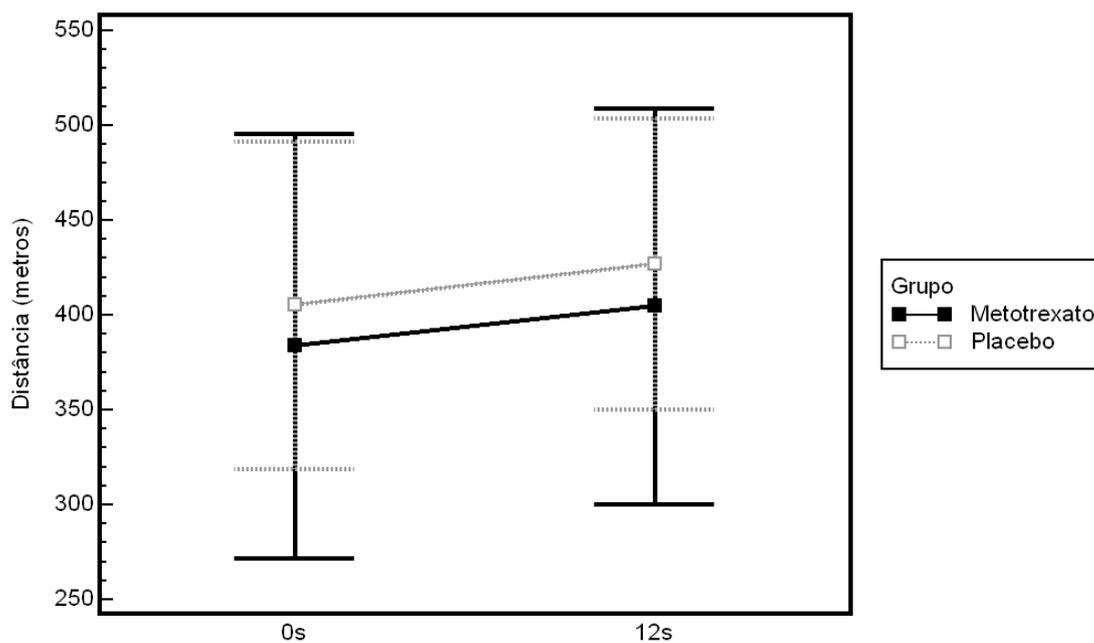


Figura 2 – Teste da caminhada de 6 minutos antes e após o tratamento, sem diferença significativa entre os grupos.

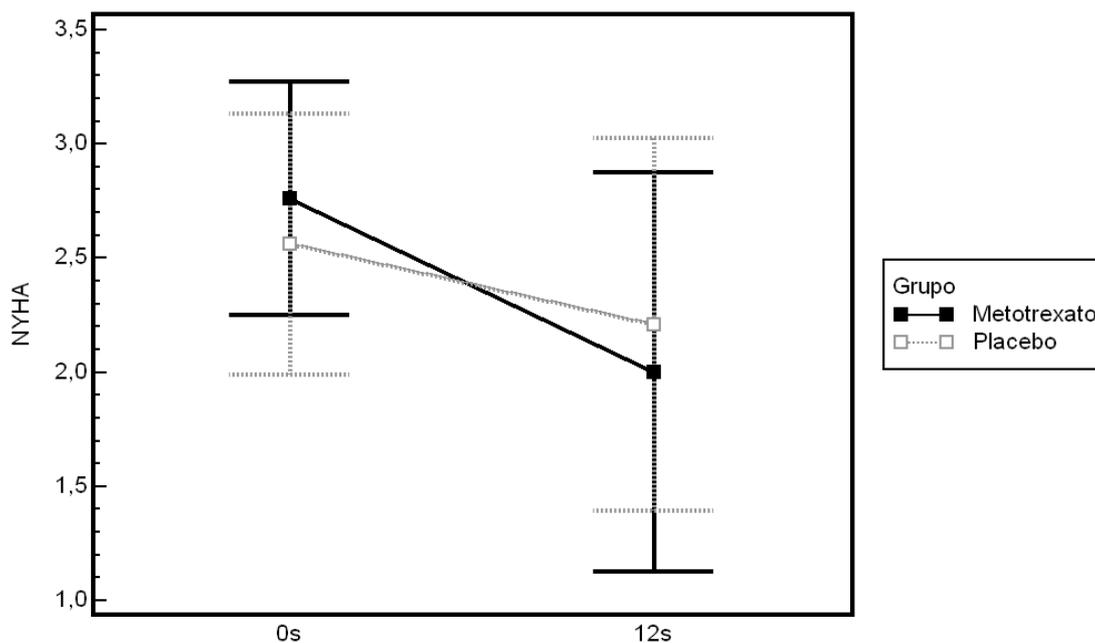


Figura 3 – Classe funcional (NYHA) antes e depois do tratamento, com uma tendência marginal de melhora no grupo metotrexato ( $p=0,06$ ).

TABELA 1 – Características de base dos pacientes randomizados:

	Metotrexato (n=25)	Placebo (n=25)	p
Idade (anos)	60,8±10,3	58,2±8,0	0,33
Sexo masculino (%)	18 (72,0)	21 (85,0)	0,31
Classe NYHA (II/III/IV)	7/17/1	12/12/1	0,34
Fração de ejeção	34,0±8,9	35,6±7,0	0,47
Índice de massa corporal	28,2±6,4	29,5±4,5	0,39
Diabetes (%)	9 (36,0)	7 (28,0)	0,54
Hipertensão arterial sistêmica (%)	18 (72)	18 (72,0)	>0,99
Fibrilação atrial (%)	2 (8,0)	8 (32,0)	0,03
Tabagismo ativo (%)	9 (36,0)	8 (32,0)	0,70
Infarto do miocárdio prévio (%)	16 (64,0)	14 (56,0)	0,50
Doença arterial periférica (%)	3 (12,0)	3 (12,0)	>0,99

Angioplastia coronariana prévia (%)	14 (56,0)	14 (56,0)	>0,99
Cirurgia de revascularização prévia (%)	7 (28,0)	7 (28,0)	>0,99
Lesão coronariana > 50% (%)			
Tronco de coronária esquerda	2 (8,0)	1 (4,0)	0,55
Descendente anterior	14 (56,0)	14 (56,0)	>0,99
Diagonal	6 (24,0)	4 (16,0)	0,48
Circunflexa	8 (32,0)	6 (24,0)	0,53
Ramo marginal de circunflexa	5 (20,0)	8 (32,0)	0,33
Coronária direita	10 (36,0)	14 (56,0)	0,26
Ramo descendente posterior	2 (8,0)	1 (4,0)	0,55
Enxerto (mamária ou safena)	2 (8,0)	5 (20,0)	0,22
Medicações em uso (%)			
Aspirina	25 (100,0)	24 (96,0)	0,31
Beta-bloqueadores	21 (84,0)	21 (84,0)	>0,99
Bloqueadores do canal de cálcio	4 (16,0)	5 (20,0)	0,71
Bloqueadores do receptor AT <sub>1</sub>	1 (4,0)	1 (4,0)	>0,99
Digoxina	6 (24,0)	7 (28,0)	0,75
Diuréticos	17 (68,0)	20 (80,0)	0,09
Espironolactona	11 (44,0)	9 (36,0)	0,56
Estatina	20 (80,0)	17 (68,0)	0,33
Inibidor da ECA	21 (88,0)	20 (80,0)	0,71
Nitrato	11 (44,0)	13 (52,0)	0,57
Dose de furosemda	45,7±14,5	69,1±36,2	0,06

---

Valores apresentados como média± desvio padrão.

TABELA 2 – SF-36 nos diferentes domínios, conforme o tratamento:

Domínio	Metotrexato			Placebo		
	Antes	12 s	Delta	Antes	12 s	Delta
Capacidade funcional	45,0 (32,5 – 62,5)	<b>75,0*</b> <b>(32,5 – 87,5)</b>	10,0 (0,0 – 22,5)	40,0 (25,0 – 57,5)	<b>40,0*</b> <b>(22,5 – 72,5)</b>	10,0 (0,0 – 20,0)
Limitação por aspectos físicos	0,0 (0,0 – 50,0)	<b>25,0*</b> <b>(0,0 – 100,0)</b>	25,0 (0,0 – 25,0)	0,0 (0,0 – 25,0)	<b>25,0*</b> <b>(0,0 – 93,7)</b>	25,0 (0,0 – 68,7)
Dor	62,0 (46,5 – 72,0)	72,0 (55,5 – 100,0)	0,0 (0,0 – 21,5)	51,0 (31,0 – 72,0)	56,5 (41,0 – 90,5)	10,0 (0,0 – 26,2)
Estado geral de saúde	55,0 (37,5 – 64,5)	67,0 (42,0 – 80,0)	10,0 (-7,5 – 16,5)	42,0 (27,5 – 47,0)	<b>52,0*</b> <b>(35,5 – 67,0)</b>	13,5 (-6,5 – 26,5)
Vitalidade	50,0 (32,5 – 37,5)	60,0 (37,5 – 70,0)	10,0 (-5,0 – 15,0)	40,0 (27,5 – 62,5)	<b>50,0*</b> <b>(41,2 – 63,0)</b>	10,0 (1,2 – 27,5)
Aspectos sociais	87,5 (50,0 – 87,5)	87,5 (56,2 – 100,0)	0,0 (-12,5 – 18,7)	62,5 (25,0 – 87,5)	68,7 (25,0 – 87,5)	0,0 (-9,4 – 12,5)
Aspectos emocionais	33,3 (0,0 – 100,0)	66,7 (16,7 – 100,0)	0,0 (-33,3 – 33,3)	0,0 (0,0 – 83,3)	50,0 (0,0 – 100,0)	0,0 (0,0 – 33,3)
Saúde mental	68,0 (52,0 – 86,0)	76,0 (54,0 – 88,0)	0,0 (-12,0 – 10,0)	60,0 (30,0 – 68,0)	<b>56,0*</b> <b>(45,0 – 76,0)</b>	<b>8,0†</b> <b>(4,0 – 16,0)</b>

Valores apresentados como medianas e percentis 25 – 75; \*P<0,05 comparado com o pré-tratamento; †P=0,33 comparado com o grupo metotrexato.

TABELA 3 – Avaliação laboratorial antes e após o tratamento:

	Metotrexato			Placebo		
	Antes	12s	p	Antes	12s	p
Hematócrito (%)	39,7±3,0	38,9±3,6	0,36	40,0±3,5	40,5±3,6	0,37
Hemoglobina (g/dL)	13,1±1,0	12,9±1,2	0,48	13,3±1,3	13,4±1,2	0,54
Leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	7764,0± 1944,4	7823,8± 2013,2	0,73	7708,0± 2373,4	7766,7± 2012,5	0,76
Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )	241440,0± 51285,2	252095,2± 51832,3	0,40	212920,0± 61560,2	217375,0± 69593,1	0,80
Creatinina (mg/dL)	1,0±0,3	1,0±0,2	0,24	1,1±0,3	1,0±0,3	0,11
TGO (U/L)	9,6±4,0	9,2±2,8	0,16	10,6±7,6	10,4±9,5	0,80
TGP (U/L)	11,7±7,4	11,0±4,3	0,49	13,4±12,7	13,2±13,6	0,69

Valores apresentados como média±desvio padrão

## 6 ARTIGO – VERSÃO EM LÍNGUA INGLESA

This article will be submitted to the Journal of Cardiac Failure.

**Title:**

METHOTREXATE THERAPY EFFECTS ON THE PHYSICAL CAPACITY OF PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART FAILURE: RANDOMIZED DOUBLE-BLIND, PLACEBO-CONTROLLED TRIAL (METIS TRIAL).

**Short Title:**

METHOTREXATE IN THE ISCHEMIC HEART FAILURE.

**Keywords:**

Heart Failure; Myocardial Ischemia; Methotrexate; Inflammation.

**Authors:**

Daniel Medeiros Moreira\*, Jefferson Luís Vieira\*, Carlos Antônio Mascia Gottschall†.

\* - MD – Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul;

† - PhD – Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul;

**Address:**

Daniel Medeiros Moreira

Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul – Fundação Universitária de  
Cardiologia;

Rua Princesa Isabel, 390, Santana

Porto Alegre, RS – Brazil

CEP: 90620-001

danielmedeirosmoreira@gmail.com

**Financial suport:**

FAPIC – Fundação de Amparo a Pesquisa do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul – Institutional financial suport.

**Interest conflits:**

None.

## 6.1 ABSTRACT

### 6.1.1 Background

The cytokine hypothesis proved the association between Chronic Heart Failure (CHF) and inflammation. Methotrexate use could improve clinical status of patients with CHF, especially with Ischemic etiology.

### 6.1.2 Methods and Results

METIS is a randomized, double-blinded trial that studied 50 patients with ischemic CHF that received methotrexate (7.5mg) or placebo with folic acid (5mg) for 12 weeks. The primary end-result was the improvement in the distance in the 6-minute walk test (6MWT). We also evaluated functional class (NYHA), life quality (SF-36), C-reactive protein (CRP), incidence of death, myocardial infarction, stroke, hospitalization or need for myocardial revascularization (combined outcome) and adverse effects.

The distance in 6MWT showed no significant difference between groups: improvement of  $24.5 \pm 39.5$  in the methotrexate group and  $21.3 \pm 43.7$  in the placebo group,  $p=0.80$ . The NYHA showed marginal trend of improvement among patients who received methotrexate ( $-0.76 \pm 0.62$ ) compared with placebo ( $-0.37 \pm 0.71$ ),  $p=0.06$ . The SF-36 showed improvement in the mental health scores in the placebo group. There were no significant differences in levels of CRP, incidence of combined outcome and adverse events.

### 6.1.3 Conclusion

The results show a marginal effect in NYHA without significant changes in the 6MWT distance without difference in adverse effects incidence.

*Registration at ClinicalTrials.gov under number NCT00759811.*

## 6.1 INTRODUCTION

Heart Failure (HF) is a public health problem that has affected 2.5% of the U.S. population over the last 20 years (1). Despite the developments in therapy in the last decades, the mortality rate and number of admissions remains high. Ischemic heart disease remains the main etiological factor (2).

There is an inflammatory activation in HF, with increased plasma levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-2, IL-6, IL-8, soluble receptor of IL-6,

cluster of differentiation 14 (CD14), endothelin 1A and 1B. This inflammatory activation was known as the "hypothesis of cytokines" (3-6). The magnitude of the increase in cytokines is related to the severity of the condition, and the Ischemic HF presents higher plasma levels, suggesting a greater association with the inflammatory process in this etiology (7).

The hypothesis of cytokines promoted a search for potential therapeutic targets. Attempts to antagonize the TNF- $\alpha$ , endothelin A and matrix metalloproteinase, however, were ineffective or harmful (8-11). Despite the failure of extensive clinical trials, lesser studies have shown promising results with nonspecific anti-inflammatory drugs such as thalidomide, pentoxifylline and methotrexate (12-14).

The methotrexate promotes its anti-inflammatory action through the increase of adenosine (15-18). Experimental studies and human studies suggest that besides reducing the inflammatory activation, the adenosine could bring benefit to patients with Ischemic HF through the activation of different adenosine receptors, with consequent reduction of hibernating and stunned myocardium areas, reduction of Ischemia areas, reduction of oxidative stress and platelet adhesion (19-25).

Then, we did the METIS trial to evaluate methotrexate therapy effects on the physical capacity of patients with ischemic heart failure.

## 6.2 METHODS

### 6.2.1. Design and Patients

This study (METIS) is a randomized, double-blind, placebo-controlled study conducted at the Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil in the period from December 2007 to November 2008. The research protocol was designed in accordance with the Helsinki Declaration and approved by the Ethics Committee of the institution. Prior consent was obtained from all patients before randomization. All patients should be under the optimal treatment for HF before participation.

The inclusion criteria were: (1) age between 18 and 80 years, (2) presence of heart failure with functional class II, III or IV New York Heart Association (NYHA), (3) systolic dysfunction with ejection fraction less than 45% in coronary angiography (held between 1 and 6 months), (4) lesion equal or above 50% of the light in at least one coronary artery on

coronary angiography (held between 1 and 6 months) or presence of coronary lesion previously revascularized within the previous 4 months (coronary artery bypass grafting or coronary angioplasty). The exclusion criteria were: (1) acute myocardial infarction in the last 4 months, (2) systolic dysfunction diagnosed only during an acute coronary syndrome, (3) the need for elective coronary artery bypass surgery within 12 weeks following, (4) liver disease (AST and ALT above the normal limit), (5) renal failure (plasma creatinine greater than 2.0 mg/dl), (6) drinking (consuming more than 20 doses per week), (7) use of illicit drugs; (8) rheumatoid arthritis and other inflammatory disease, (9) cancer, (10) infectious diseases; (11) hematocrit less than 30%; (12) use of anti-inflammatory drugs in the last month; (13) inability to walk or to do the 6-minute walk test (6MWT); (14) inability to understand the SF-36 questionnaire.

Through a computer program, an independent researcher has created a randomization in blocks of four patients at a rate of 1:1 to receive methotrexate 7.5 mg orally per week or the equivalent dosage in placebo for 12 weeks. Both groups received folic acid (5mg per week), aiming at reducing potential methotrexate adverse effects (26). Before the research treatment, we evaluated hemogram, transaminases, plasma creatinine, C-reactive protein (CRP), distance walked in 6MWT in a corridor of 30 meters with standard encouragement phrases (27), functional class (NYHA) and scoring of quality of life (Raw Scale) according to the Short-Form 36 protocol (SF-36) validated for the Brazilian population (28). After 6 weeks we conducted a clinical history in search of potential side effects and re-assessed hemogram, transaminases, plasma creatinine. We would have stopped the treatment if there were changes in the exams that we considered severe (thrombocytopenia less than 50,000, hematocrit less than 18% or creatinine more than twice the baseline) or moderate (ALT more than 3 times the normal limit, between 50,000 and 100,000 platelets or hematocrit of 18 to 27%) (29). After the end of treatment (12 weeks) we collected new hemogram, transaminases, plasma creatinine, CRP, we evaluated the distance on the 6MWT, NYHA functional class and then scored on quality of life of the SF-36.

### **6.2.2 End-points**

The initial outcome of the study was the improvement in 6MWT distance. The

secondary outcomes were: improvement in SF-36; improvement in functional class (NYHA); reduction in plasma CRP levels; impact of the composed event of death from all causes, myocardial infarction, stroke, hospitalization for heart failure worsening or need for coronary revascularization and also in adverse events incidences.

An external security committee held interim data evaluation where we reached the randomization of half of the patients, to detect a possible increase in the adverse effects incidence. This committee could have suggested if interruption of the study was necessary.

### **6.2.3 Statistical Analysis**

Patients were included in the analysis with the intention principally to be treated. The results were presented as mean  $\pm$  standard deviation or median with interquartile range when appropriate. Continuous variables were analyzed by Student t test for paired samples for differences before and after treatment and the Student t test for independent samples for differences between the groups. Differences in the plasma level of CRP and the scores of the SF-36 before and after treatment were evaluated by the Wilcoxon test and between groups by the Mann-Whitney U test. Categorical variables were evaluated through the test of chi-squared. We considered significant values of  $p < 0.05$ . The tests were performed using Windows SPSS software, version 13.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois).

Sample sizes of 44 patients were estimated to detect a difference between groups of 30 meters in 6MWT distance and estimating a follow-up loss of 10%. We used a significance level of 5% and power of 80% for a 2-tailed t test.

## **6.3 RESULTS**

### **6.3.1 Baseline**

A total of 50 patients were randomized in the period from December 2007 to September 2008. In total, 25 were randomized to receive methotrexate and 25 to receive placebo. We were unable to complete the follow up of 3 patients (2 in the methotrexate group and 1 in placebo,  $p=0.55$ ). (Figure 1). Table 1 shows the basic characteristics of the patients enrolled in the study. There were no differences in the basal characteristics of the two groups, except for the higher atrial fibrillation presence in the methotrexate group and the mean dose

of furosemide, which was not significantly higher in the placebo group. The mean duration of treatment was  $11.5 \pm 1.9$  weeks in the methotrexate group and  $11.3 \pm 2.4$  weeks in the placebo ( $p = 0.73$ ).

### 6.3.2 End-points

The 6MWT could be performed before and after treatment by 21 patients in the methotrexate group and 24 in the placebo group (2 patients who received methotrexate showed secondary outcomes that prevented the test after 12 weeks). The mean walked distance showed significant improvement in both groups: from  $379.9 \pm 124.6$ m before to  $404.4 \pm 107.0$ m after 12 weeks in patients who received methotrexate ( $p=0.01$ ) and  $405.6 \pm 89.8$  prior to  $426.9 \pm 78.5$ m after 12 weeks in patients who received placebo ( $p=0.03$ ). The mean differences between the 6MWT before and after treatment ( $24.5 \pm 39.5$ m in the methotrexate group and  $21.3 \pm 43.7$ m in the placebo group), however, were not significantly different ( $p=0.80$ ) (Figure 2).

The evaluation of the different SF-36 scores before and after treatment showed that patients randomized to receive placebo or methotrexate had some improvement in the physical functioning and role-physical scales. The patients who received placebo also showed significant improvement in the general health, vitality and mental health scores. When evaluated the differences between scores before and after treatment, we observed a significantly higher value in the placebo group with regard to mental health scores (Table 2).

The mean functional class also improved in both groups: from  $2.76 \pm 0.54$  before to  $2.00 \pm 0.89$  after 12 weeks in the methotrexate group ( $p < 0.001$ ) and  $2.58 \pm 0.58$  prior to  $2.21 \pm 0.83$  after 12 weeks in the placebo group ( $p=0.02$ ). The mean differences between the functional class before and after treatment showed a trend within the limits of the significance of improvement in patients who received methotrexate ( $-0.76 \pm 0.62$ ) when compared with those who received placebo ( $-0.37 \pm 0.71$ ) ( $p=0.06$ ) (Figure 3).

The CRP levels showed no significant change in either of the groups: median of  $2.8$ mg/L (1.8 - 5.1) before and  $3.0$ mg/L (1.5 - 6.3) after in the methotrexate group ( $p=0.56$ ) and medians of  $2.6$ mg/L (1.4 - 8.5) before and  $2.4$ mg/L (0.5 - 5.5) after in the placebo group ( $p=0.16$ ). Differences between the levels of CRP before and after treatment also were not

different between the groups: 0.031mg/L (-1.0 - 1.8) in the methotrexate group and 0.0mg/L (-2.8 - 0.3) in the placebo group (p=0.19).

The "combined" outcome occurred in 3 patients who received methotrexate and 2 who received placebo (p=0.64). These outcomes were represented by a death (abdominal aorta dissection), one patient needed surgery for revascularization, and a patient needed to be hospitalized with worsening HF in the methotrexate group, also 2 patients were hospitalized for worsening HF in the placebo group. Adverse events occurred in 7 patients who received methotrexate and 9 who received placebo (p=0.85). The most common adverse effects were nausea (2 patients who received methotrexate and 2 who received placebo), dizziness and lipothymia (1 patient in the methotrexate group and 2 in placebo). There was a case of sustained ventricular tachycardia without hemodynamic instability in one patient from the methotrexate group. There were no significant changes in the hematocrit, hemoglobin, white blood cells, platelets, creatinine and transaminases levels (Table 3). There were no laboratorial changes that could have indicated treatment cessation.

#### 6.4 DISCUSSION

Methotrexate has recognized anti-inflammatory effects, exercised through increased adenosine levels, which act mainly on adenosine  $A_2$  receptors (18). There is evidence that also suggests methotrexate benefit in Ischemic heart disease and HF: patients with rheumatoid arthritis who received one year of treatment with methotrexate, compared with those who had never used it, showed a 15% reduction in risk of cardiovascular events and 18% reduction of acute myocardial infarction (30); Animal studies have shown that methotrexate reduces the experimentally induced infarction area. This effect is blocked with adenosine antagonism. There is also evidence of necrotic myocardium reduction with the activation of adenosine  $A_{2A}$  specific receptors (25, 31). Under the light of this evidence, this study (METIS) was the first to evaluate the methotrexate effect in patients with Ischemic heart failure. Although there is data from an earlier study showing its use benefit in patients in all etiologies heart failures, in Ischemic HF there was no significant benefit (14). One of the hypotheses for the questionable methotrexate action in this study is that, unlike what happened in experimental studies that demonstrated their benefit, the therapy was started

long after the reperfusion period, when the necrosis areas were already well established (25). Another possibility is that the methotrexate dose was not enough to promote anti-inflammatory effects, which could justify the absence of significant changes in plasma levels of CRP. We can also not discard the adjuvant folic acid effect: despite a meta-analysis showing that it does not alter the anti-inflammatory effect on rheumatoid arthritis, there is no evidence of their effect on methotrexate use in Ischemic HF (26).

The primary outcome measured by improvement in the 6MWT is an objective, easy and inexpensive way to evaluate the process of improvement or worsening of heart failure with a negative correlation with NYHA functional class. It also allows detection of a worse prognosis among patients who walk less than 340 meters (32, 33). However, a review showed that the majority of clinical trials that used 6MWT as an outcome showed no conclusive results, even when the drugs used showed benefits in the reduction of severe outcomes. The same review showed greater presence of positive effects in the 6MWT in the placebo group in minor studies, as is the case of this study (34).

The secondary outcomes, such as change in functional class (NYHA) and the SF-36 scores, are of great importance in view of the fact that both are also prognostic factors (33, 35). This study showed an improvement trend in functional class in patients who received methotrexate close to the significance, and that may not have been due to the size of the sample. There is no explanation for the SF-36 mental health scale improvement in the placebo group.

There were no significant differences in the side effects incidences in patients who received methotrexate, compared to placebo, which reaffirms the drugs safety. Thus, in Ischemic HF at a dose of 7.5 mg for 12 weeks with replacement of folate, the drug was safe, with fewer side effects when used for rheumatoid arthritis, this is when there are the most severe reactions, such changes as with severe gastrointestinal, leukopenia, thrombocytopenia, pneumonia and worsening renal function had effects that did not exceed 5% (29). In this study, nausea was the most common adverse effect and appeared in only 9.5% of patients who received methotrexate. Other more serious changes, such as hemogram or kidney function were not present during our study.

This study has some limitations: the sample size does not determine potential

differences between the groups in the incidence of conclusive outcomes such as mortality; as well as in rheumatoid arthritis, the optimal dose of methotrexate should be individualized for each patient, with progressive-dose titrations, which was not done in this study; the higher atrial fibrillation prevalence in the methotrexate group and a non significant trend of a higher dose of furosemide in the placebo group were variables that may have hampered the evaluation of treatment with methotrexate.

In conclusion, contrary to previous studies that showed in all etiologies, methotrexate at a dose of 7.5 mg per week associated with folic acid 5 mg for 12 weeks showed only marginal effect, with a strong improvement trend in functional class in the methotrexate group compared with the placebo group ( $p = 0.06$ ). New randomized studies are needed to evaluate this trend and its possible effect on patients with acute coronary syndrome.

## 6.5 FIGURES AND TABLES

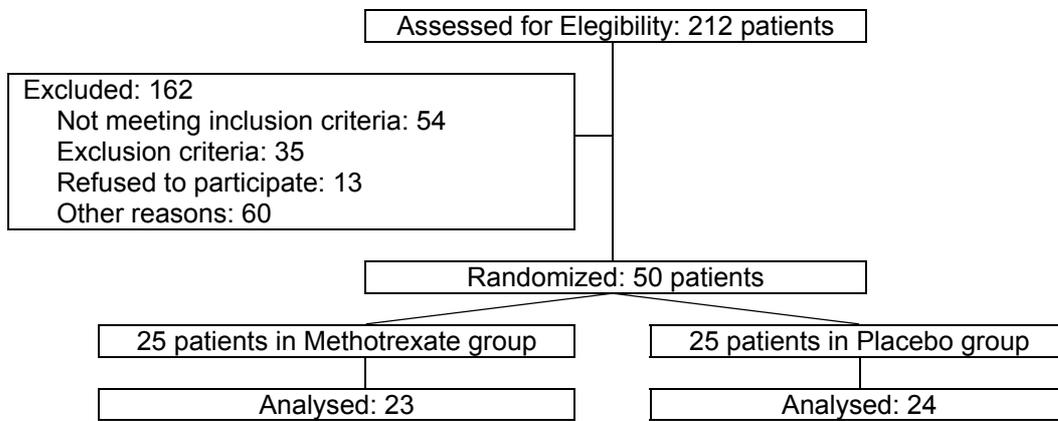


Figure 1 – Patients flow.

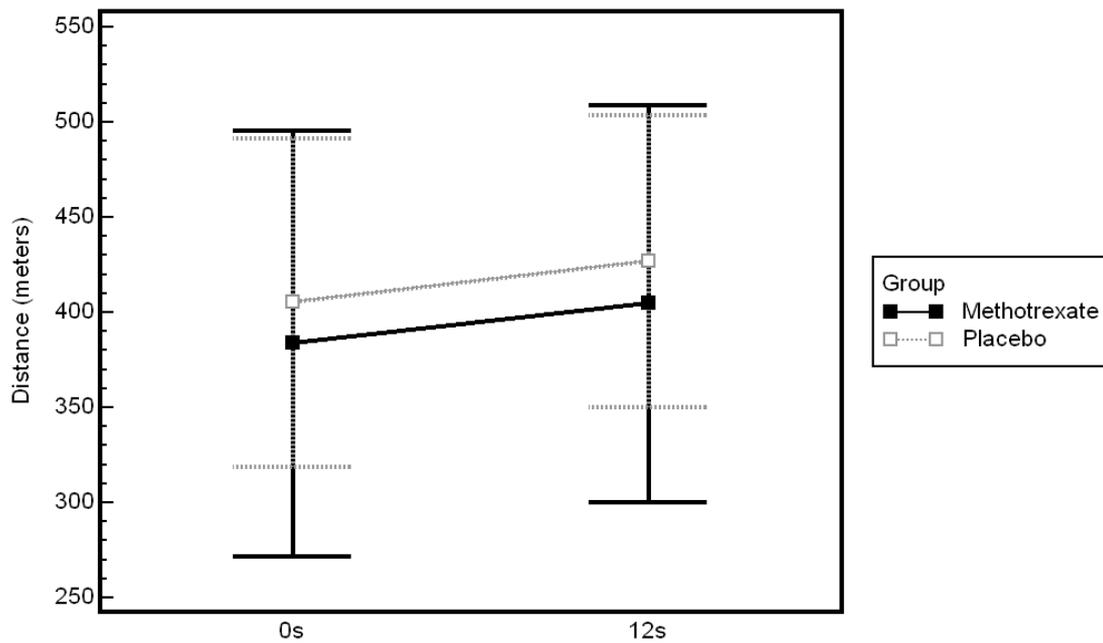


Figure 2 – 6MWT before and after treatment, without significant difference.

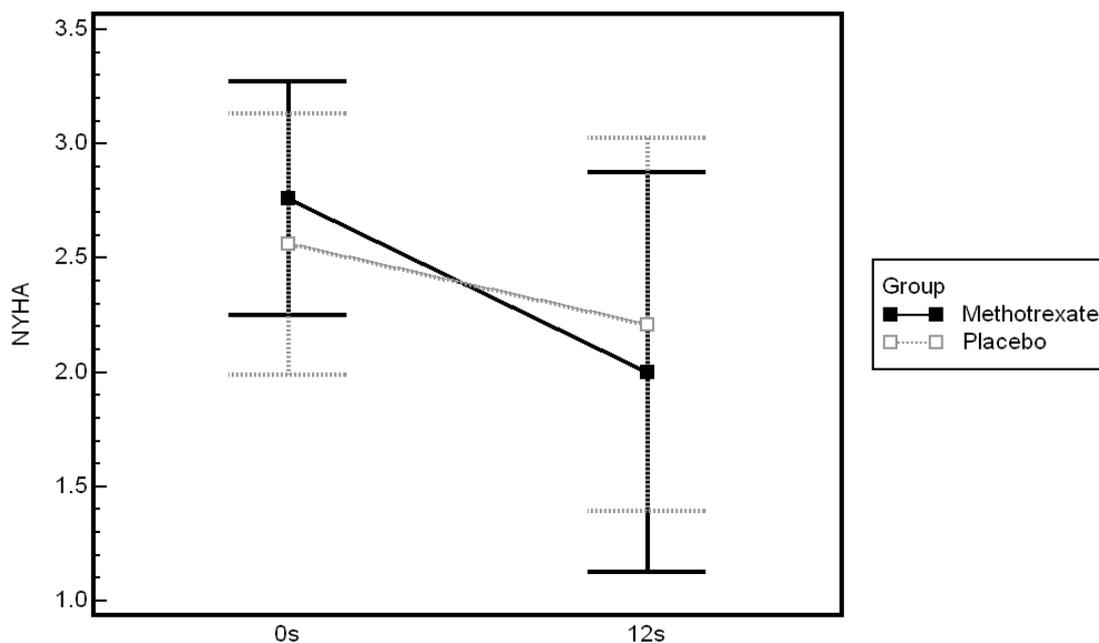


Figure 3 – NYHA before and after treatment, with an improvement trend in the methotrexate group ( $p=0.06$ ).

TABLE 1 – Baseline Characteristics of the Patients:

	Methotrexate (n=25)	Placebo (n=25)	p value
Age (years)	60.8±10.3	58.2±8.0	0.33
Male sex (%)	18 (72.0)	21(85.0)	0.31
NYHA class (II/III/IV)	7/17/1	12/12/1	0.34
Left ventricular ejection fraction	34.0±8.9	35.6±7.0	0.47
Body mass index	28.2±6.4	29.5±4.5	0.39
Diabetes (%)	9 (36.0)	7 (28.0)	0.54
Hypertension (%)	18 (72)	18 (72.0)	>0.99
Atrial fibrillation (%)	2 (8.0)	8 (32.0)	0.03
Active smokers (%)	9 (36.0)	8 (32.0)	0.70
Prior myocardial Infarction (%)	16 (64.0)	14 (56.0)	0.50
Peripheral arterial disease (%)	3 (12.0)	3 (12.0)	>0.99

Prior percutaneous transluminal coronary angioplasty (%)	14 (56.0)	14 (56.0)	>0.99
Prior CAGB (%)	7 (28.0)	7 (28.0)	>0.99
Coronary lesion > 50% (%)			
Left coronary artery	2 (8.0)	1 (4.0)	0.55
Anterior descending artery	14 (56.0)	14 (56.0)	>0.99
Diagonal coronary artery	6 (24.0)	4 (16.0)	0.48
Circumflex coronary artery	8 (32.0)	6 (24.0)	0.53
Oblique marginal coronary artery	5 (20.0)	8 (32.0)	0.33
Right coronary artery	10 (36.0)	14 (56.0)	0.26
Posterior descending coronary artery	2 (8.0)	1 (4.0)	0.55
Bypass	2 (8.0)	5 (20.0)	0.22
Medications (%)			
Aspirine	25 (100.0)	24 (96.0)	0.31
Beta-blockers	21 (84.0)	21 (84.0)	>0.99
Calcium channel blockers	4 (16.0)	5 (20.0)	0.71
Angiotensin-receptor blocker	1 (4.0)	1 (4.0)	>0.99
Digoxin	6 (24.0)	7 (28.0)	0.75
Diuretics	17 (68.0)	20 (80.0)	0.09
Spironolactone	11 (44.0)	9 (36.0)	0.56
Statin	20 (80.0)	17 (68.0)	0.33
ACE inhibitor	21 (88.0)	20 (80.0)	0.71
Nitrate	11 (44.0)	13 (52.0)	0.57
Furosemide dose	45.7±14.5	69.1±36.2	0.06

---

Values presented as mean± SD.

TABLE 2 – SF-36 scores in methotrexate e placebo groups:

Scales	Methotrexate			Placebo		
	Before	After	Delta	Before	After	Delta
Physical functioning	45.0 (32.5 – 62.5)	<b>75.0*</b> <b>(32.5 – 87.5)</b>	10.0 (0.0 – 22.5)	40.0 (25.0 – 57.5)	<b>40.0*</b> <b>(22.5 – 72.5)</b>	10.0 (0.0 – 20.0)
Role-physical	0.0 (0.0 – 50.0)	<b>25.0*</b> <b>(0.0 – 100.0)</b>	25.0 (0.0 – 25.0)	0.0 (0.0 – 25.0)	<b>25.0*</b> <b>(0.0 – 93.7)</b>	25.0 (0.0 – 68.7)
Bodily pain	62.0 (46.5 – 72.0)	72.0 (55.5 – 100.0)	0.0 (0.0 – 21.5)	51.0 (31.0 – 72.0)	56.5 (41.0 – 90.5)	10.0 (0.0 – 26.2)
General health	55.0 (37.5 – 64.5)	67.0 (42.0 – 80.0)	10.0 (-7.5 – 16.5)	42.0 (27.5 – 47.0)	<b>52.0*</b> <b>(35.5 – 67.0)</b>	13.5 (-6.5 – 26.5)
Vitality	50.0 (32.5 – 37.5)	60.0 (37.5 – 70.0)	10.0 (-5.0 – 15.0)	40.0 (27.5 – 62.5)	<b>50.0*</b> <b>(41.2 – 63.0)</b>	10.0 (1.2 – 27.5)
Social functioning	87.5 (50.0 – 87.5)	87.5 (56.2 – 100.0)	0.0 (-12.5 – 18.7)	62.5 (25.0 – 87.5)	68.7 (25.0 – 87.5)	0.0 (-9.4 – 12.5)
Role-emotional	33.3 (0.0 – 100.0)	66.7 (16.7 – 100.0)	0.0 (-33.3 – 33.3)	0.0 (0.0 – 83.3)	50.0 (0.0 – 100.0)	0.0 (0.0 – 33.3)
Mental health	68.0 (52.0 – 86.0)	76.0 (54.0 – 88.0)	0.0 (-12.0 – 10.0)	60.0 (30.0 – 68.0)	<b>56.0*</b> <b>(45.0 – 76.0)</b>	<b>8.0†</b> <b>(4.0 – 16.0)</b>

Values presented as median and percentiles 25 – 75; \*P<0.05 compared with before the treatment; †P=0.33 compared with the methotrexate group.

TABLE 3 – Laboratorial evaluation before and after treatment:

	Methotrexate			Placebo		
	Before	After	p	Before	After	p
Hematocrit (%)	39.7±3.0	38.9±3.6	0.36	40.0±3.5	40.5±3.6	0.37
Hemoglobin (g/dL)	13.1±1.0	12.9±1.2	0.48	13.3±1.3	13.4±1.2	0.54
Leukocytes (/mm <sup>3</sup> )	7764.0± 1944.4	7823.8± 2013.2	0.73	7708.0± 2373.4	7766.7± 2012.5	0.76
Platelets (/mm <sup>3</sup> )	241440.0± 51285.2	252095.2± 51832.3	0.40	212920.0± 61560.2	217375.0± 69593.1	0.80
Creatinine (mg/dL)	1.0±0.3	1.0±0.2	0.24	1.1±0.3	1.0±0.3	0.11
AST (U/L)	9.6±4.0	9.2±2.8	0.16	10.6±7.6	10.4±9.5	0.80
ALT (U/L)	11.7±7.4	11.0±4.3	0.49	13.4±12.7	13.2±13.6	0.69

Values presented as mean± SD.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO

1. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008 Jan 29;117(4):e25-146.
2. Barretto ACP, Carlo CHD, Cardoso JN, Morgado PC, Munhoz RT, Eid MO, et al. Hospital Readmissions and Death from Heart Failure - Rates Still Alarming. *Arq Bras Cardiol*. 2008 Nov;91(5):309-14.
3. Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail*. 1996 Sep;2(3):243-9.
4. El-Menyar AA. Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *J Card Fail*. 2008 Feb;14(1):61-74.
5. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999 May 29;353(9167):1838-42.
6. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart*. 2004 Apr;90(4):464-70.
7. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation*. 2001 Apr 24;103(16):2055-9.
8. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation*. 2003 Jul 1;107(25):3133-40.
9. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation*. 2004 Apr 6;109(13):1594-602.
10. Anand I, McMurray J, Cohn JN, Konstam MA, Notter T, Quiza K, et al. Long-term effects of darusentan on left-ventricular remodelling and clinical outcomes in the EndothelinA Receptor Antagonist Trial in Heart Failure (EARTH): randomised, double-blind, placebo-

- controlled trial. *Lancet*. 2004 Jul 24-30;364(9431):347-54.
11. Hudson MP, Armstrong PW, Ruzyllo W, Brum J, Cusmano L, Krzeski P, et al. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Jul 4;48(1):15-20.
  12. Gullestad L, Semb AG, Holt E, Skardal R, Ueland T, Yndestad A, et al. Effect of thalidomide in patients with chronic heart failure. *Am Heart J*. 2002 Nov;144(5):847-50.
  13. Sliwa K, Woodiwiss A, Kone VN, Candy G, Badenhorst D, Norton G, et al. Therapy of ischemic cardiomyopathy with the immunomodulating agent pentoxifylline: results of a randomized study. *Circulation*. 2004 Feb 17;109(6):750-5.
  14. Gong K, Zhang Z, Sun X, Zhang X, Li A, Yan J, et al. The nonspecific anti-inflammatory therapy with methotrexate for patients with chronic heart failure. *Am Heart J*. 2006 Jan;151(1):62-8.
  15. Baggott J, Vaughn W, Hudson B. Inhibition of 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide transformylase, adenosine deaminase and 5'-adenylate deaminase by polyglutamates of methotrexate and oxidized folates and by 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside and ribotide. *Biochem J*. 1986;236(1):193-200.
  16. Morabito L, Montesinos MC, Schreiber DM, Balter L, Thompson LF, Resta R, et al. Methotrexate and Sulfasalazine Promote Adenosine Release by a Mechanism that Requires Ecto-5'-nucleotidase-mediated Conversion of Adenine Nucleotides. *Journal of Clinical Investigation*. 1998;101(2):295-300.
  17. Cronstein BN, Eberle MA, Gruber HE, Levin RI. Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991;88(6):2441.
  18. Cronstein BN, Naime D, Ostad E. The antiinflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. *J Clin Invest*. 1993 Dec;92(6):2675-82.
  19. Glover DK, Ruiz M, Takehana K, Petruzella FD, Rieger JM, Macdonald TL, et al. Cardioprotection by adenosine A2A agonists in a canine model of myocardial stunning produced by multiple episodes of transient ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.

- 2007 Jun;292(6):H3164-71.
20. Marzilli M, Orsini E, Marraccini P, Testa R. Beneficial effects of intracoronary adenosine as an adjunct to primary angioplasty in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2000 May 9;101(18):2154-9.
21. Wei M, Kuukasjarvi P, Laurikka J, Honkonen EL, Kaukinen S, Laine S, et al. Cardioprotective effect of adenosine pretreatment in coronary artery bypass grafting. *Chest*. 2001 Sep;120(3):860-5.
22. Lee CH, Low A, Tai BC, Co M, Chan MY, Lim J, et al. Pretreatment with intracoronary adenosine reduces the incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention: a prospective randomized study. *Eur Heart J*. 2007 Jan;28(1):19-25.
23. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol*. 2005 Jun 7;45(11):1775-80.
24. Kitakaze M, Hori M, Sato H, Takashima S, Inoue M, Kitabatake A, et al. Endogenous adenosine inhibits platelet aggregation during myocardial ischemia in dogs. *Circ Res*. 1991 Nov;69(5):1402-8.
25. Asanuma H, Sanada S, Ogai A, Minamino T, Takashima S, Asakura M, et al. Methotrexate and MX-68, a new derivative of methotrexate, limit infarct size via adenosine-dependent mechanisms in canine hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004 Apr;43(4):574-9.
26. Ortiz Z, Shea B, Suarez Almazor M, Moher D, Wells G, Tugwell P. Folic acid and folinic acid for reducing side effects in patients receiving methotrexate for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000(2):CD000951.
27. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jul 1;166(1):111-7.
28. Ciconelli RM. Tradução para o português e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida "Medical outcomes study 36-Item short-form health survey (SF-36)" (Thesis). São Paulo: Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo; 1997.
29. van Ede AE, Laan RF, Rood MJ, Huizinga TW, van de Laar MA, van Denderen CJ, et al.

- Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum.* 2001 Jul;44(7):1515-24.
30. Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, Calvo-Alen J, Horslev-Petersen K, Luukkainen RK, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(2):R30.
31. Jordan JE, Zhao ZQ, Sato H, Taft S, Vinten-Johansen J. Adenosine A<sub>2</sub> receptor activation attenuates reperfusion injury by inhibiting neutrophil accumulation, superoxide generation and coronary endothelial adherence. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997 Jan;280(1):301-9.
32. Guyatt GH, Sullivan MJ, Thompson PJ, Fallen EL, Pugsley SO, Taylor DW, et al. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Can Med Assoc J.* 1985 Apr 15;132(8):919-23.
33. Passantino A, Lagioia R, Mastropasqua F, Scrutinio D. Short-term change in distance walked in 6 min is an indicator of outcome in patients with chronic heart failure in clinical practice. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jul 4;48(1):99-105.
34. Olsson LG, Swedberg K, Clark AL, Witte KK, Cleland JG. Six minute corridor walk test as an outcome measure for the assessment of treatment in randomized, blinded intervention trials of chronic heart failure: a systematic review. *Eur Heart J.* 2005 Apr;26(8):778-93.
35. Rodriguez-Artalejo F, Guallar-Castillon P, Pascual CR, Otero CM, Montes AO, Garcia AN, et al. Health-related quality of life as a predictor of hospital readmission and death among patients with heart failure. *Arch Intern Med.* 2005 Jun 13;165(11):1274-9.

**8 ANEXOS**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome do voluntário: \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_  
 Título do estudo: Efeitos da Terapia com Metotrexato sobre a Capacidade Física de Pacientes com Insuficiência Cardíaca Isquêmica: Estudo Randomizado, Duplo-Cego, Controlado com Placebo.  
 Pesquisadores responsável(is): Daniel Medeiros Moreira, Carlos Antônio Mascia Gottschall  
 Instituição: Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul - FUC  
 Telefone para contato: 8107-3114

- 1 – Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa avaliar os efeitos da medicação metotrexato na insuficiência cardíaca de origem isquêmica;
- 2 – Serão formados dois grupos de pacientes com insuficiência cardíaca isquêmica. Através de sorteio alguns receberão metotrexato com ácido fólico e o outros placebo com ácido fólico, que serão utilizados uma vez por semana por 12 semanas. O pesquisador, assim como o paciente, não sabe quem recebeu placebo ou metotrexato até o final da coleta de dados, para que possa comparar os dados imparcialmente;
- 3 – Serão realizados coleta de sangue para exames através de punção no braço (creatinina, TP, TGO, TGP, PCR e hemograma) antes do estudo e após 6 e 12 semanas; Também será realizado um questionário de qualidade de vida e o teste da caminhada durante 6 minutos antes do tratamento e após 12 semanas;
- 4 – Usuários de metotrexato podem apresentar: náuseas (33%), dor de cabeça (27%), cansaço (27%), tonturas (23%), alterações de pele (20%), dor abdominal (16%), infecção em boca (15%), tosse (11%), diarreia (9%), queda de cabelo (8%), alterações no fígado (4%), alterações intestinais mais sérias (5%), leucopenia (3%) e plaquetopenia leve (3%) (alterações no sangue), pneumonite (0,7%) (alteração pulmonar) e piora da função renal (0,7%). A punção no braço pode provocar hematoma local; O teste da caminhada pode, em casos excepcionais, provocar angina em pacientes com lesão coronariana severa.
- 5 – Os possíveis benefícios do estudo são na melhora clínica, com maior tolerância ao exercício e significativa melhora da qualidade de vida com o uso do metotrexato (conforme mostram estudos anteriores).
- 6 – Não haverá mudança na medicação de uso prévio. Não há, portanto procedimentos alternativos que possam ser mais vantajosos;
- 7 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 8 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- 9 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- 10 – Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.
- 11 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.
- 12 - Compromisso do pesquisador de utilizar dados e materiais coletados somente para esta pesquisa.

Eu, \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, fui informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Efeitos da Terapia com Metotrexato sobre a Capacidade Física de Pacientes com Insuficiência Cardíaca Isquêmica: Estudo Randomizado, Duplo-Cego, Controlado com Placebo". Discuti com o Dr. Daniel Medeiros Moreira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho

garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Porto Alegre, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito de pesquisa

-----  
Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Porto Alegre, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Daniel Medeiros Moreira

## Dados – D0

Identificação				Paciente N°	
Nome:				Data:	
Nasc:	Sexo:		Prontuário:		
Fones:			Fones (familiar):		
Peso			Altura:		

Cineangiogrametria											
Data:			Fração de ejeção:								
Lesões descritas											
TCE	<input type="checkbox"/>	%	_____	MgCx	<input type="checkbox"/>	%	_____	PS	<input type="checkbox"/>	%	_____
DA	<input type="checkbox"/>	%	_____	CD	<input type="checkbox"/>	%	_____	PS	<input type="checkbox"/>	%	_____
Dg	<input type="checkbox"/>	%	_____	DP	<input type="checkbox"/>	%	_____	Outra:	<input type="checkbox"/>	%	_____
CX	<input type="checkbox"/>	%	_____	MaM	<input type="checkbox"/>	%	_____		<input type="checkbox"/>	%	_____

História Progressa					
ACTP prévias:					
Data:		Lesões:		Data:	
Data:		Lesões:		Data:	
CRM prévias:					
Data:		Pontes:		Data:	
Data:		Pontes:		Data:	
Comorbidades:					
ACFA	<input type="checkbox"/>	Etilismo	<input type="checkbox"/>	IRC	<input type="checkbox"/>
DM	<input type="checkbox"/>	HAS	<input type="checkbox"/>	Tabagismo	<input type="checkbox"/>
Dislipidemia	<input type="checkbox"/>	História Familiar	<input type="checkbox"/>	Outros	_____

Medicação					
AAS	<input type="checkbox"/>	Diurético (outro)	<input type="checkbox"/>		
Ant. agreg. plaq. (outro)	<input type="checkbox"/>	Espironolactona	<input type="checkbox"/>		
Anticoagulante oral	<input type="checkbox"/>	Estatina	<input type="checkbox"/>		
Betabloqueador	<input type="checkbox"/>	Furosemida	<input type="checkbox"/>	Dose/dia: _____	
Bloq. Canal Cálcio	<input type="checkbox"/>	IECA	<input type="checkbox"/>		
BRA	<input type="checkbox"/>	Nitrato	<input type="checkbox"/>		
Digoxina	<input type="checkbox"/>	Outros:	_____		

Exames					
Laboratório:					
Leucócitos		%:	Eos:	Basof:	Bast:
Ht		Hb		Plaquetas	
Creatinina		TGO		TGP	
PCR					
			Segm:	Linf:	Mono:

Dispneia, Angina, Exame Físico					
NYHA:	<input type="checkbox"/> I	<input type="checkbox"/> II	<input type="checkbox"/> III	<input type="checkbox"/> IV	
Angina CF:	<input type="checkbox"/> I	<input type="checkbox"/> II	<input type="checkbox"/> III	<input type="checkbox"/> IV	
Duplo produto:	PA		FC:		

Teste da Caminhada					
--------------------	--	--	--	--	--

Distância:		Tempo (se incompleto):	
Borg antes:		Borg depois:	

**Dados – Semana 6**

Identificação		Paciente N°
Nome:		Data:
Tempo de tratamento:	Completo <input type="checkbox"/> Incompleto <input type="checkbox"/>	_____ dias

Efeitos Adversos			
Morte	<input type="checkbox"/>	Dermatológicos	<input type="checkbox"/>
IAM	<input type="checkbox"/>	Hematológicos	<input type="checkbox"/>
AVC	<input type="checkbox"/>	Hepáticos	<input type="checkbox"/>
ACTP	<input type="checkbox"/>	Gastrointestinais	<input type="checkbox"/>
CRM	<input type="checkbox"/>	Outros:	_____

Exames			
<b>Laboratório:</b>			
Leucócitos	%:	Eos: Basof: Bast: Segm: Linf: Mono:	
Ht	Hb	Plaquetas	
Creatinina	TGO	TGP	

**Dados – Semana 12**

Identificação		Paciente N°
Tempo de tratamento:	Completo <input type="checkbox"/> Incompleto <input type="checkbox"/>	_____ dias
Peso:	Altura:	

Efeitos Adversos			
Morte	<input type="checkbox"/>	Dermatológicos	<input type="checkbox"/>
IAM	<input type="checkbox"/>	Hematológicos	<input type="checkbox"/>
AVC	<input type="checkbox"/>	Hepáticos	<input type="checkbox"/>
ACTP	<input type="checkbox"/>	Gastrointestinais	<input type="checkbox"/>
CRM	<input type="checkbox"/>	Outros:	_____

Medicação			
AAS	<input type="checkbox"/>	Diurético (outro)	<input type="checkbox"/>
Ant. agreg. plaq. (outro)	<input type="checkbox"/>	Espironolactona	<input type="checkbox"/>
Anticoagulante oral	<input type="checkbox"/>	Estatina	<input type="checkbox"/>
Betabloqueador	<input type="checkbox"/>	Furosemida	<input type="checkbox"/> Dose/dia: _____
Bloq. Canal Cálcio	<input type="checkbox"/>	IECA	<input type="checkbox"/>
BRA	<input type="checkbox"/>	Nitrato	<input type="checkbox"/>
Digoxina	<input type="checkbox"/>	Outros:	_____

Exames			
<b>Laboratório:</b>			
Leucócitos	%:	Eos: Basof: Bast: Segm: Linf: Mono:	
Ht	Hb	Plaquetas	

TP		TGO		TGP	
Creatinina					

Dispnéia, Angina, Exame Físico					
NYHA:	<input type="checkbox"/> I	<input type="checkbox"/> II	<input type="checkbox"/> III	<input type="checkbox"/> IV	
Angina CF:	<input type="checkbox"/> I	<input type="checkbox"/> II	<input type="checkbox"/> III	<input type="checkbox"/> IV	
Duplo produto:		PA		FC:	

Teste da Caminhada			
Distância:		Tempo (se incompleto):	
Borg antes:		Borg depois:	

SF-36/D-0	Nome:					Número:					
1- Em geral você diria que sua saúde é:											
Excelente(1)		Muito Boa(2)		Boa(3)		Ruim(4)		Muito Ruim(5)			
2- Comparada há um ano, como você classificaria sua saúde em geral, agora?											
Muito Melhor(1)		Um Pouco Melhor(2)		Quase a Mesma(3)		Um Pouco Pior(4)		Muito Pior(5)			
3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. De acordo com a sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?											
Atividades				Sim, muita dificuldade	Sim, um pouco de dificuldade	Sem dificuldade					
a) Atividades vigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes intensos.				1	2	3					
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.				1	2	3					
c) Levantar ou carregar mantimentos				1	2	3					
d) Subir vários lances de escada				1	2	3					
e) Subir um lance de escada				1	2	3					
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se				1	2	3					
g) Andar mais de 1 Km				1	2	3					
h) Andar vários quarteirões				1	2	3					
i) Andar um quarteirão				1	2	3					
j) Tomar banho ou vestir-se				1	2	3					
4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas no seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?											
						Sim	Não				
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?						1	2				
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?						1	2				
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades?						1	2				
d) Teve dificuldade de executar seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra)?						1	2				
5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como sentir-se deprimido ou ansioso)?											
						Sim	Não				
a) Você diminui a quantidade de tempo que dedicava-se ao seu trabalho ou a outras atividades?						1	2				
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?						1	2				
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.						1	2				
6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?											
De forma nenhuma(1)		Ligeiramente(2)		Moderadamente(3)		Bastante(4)		Extremamente (5)			
7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?											
Nenhuma(1)		Muito Leve(2)		Leve(3)		Moderada(4)		Grave(5)		Muito Grave(6)	
8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?											
De maneira alguma(1)		Um pouco(2)		Moderadamente(3)		Bastante(4)		Extremamente(5)			
9- Para cada questão abaixo, por favor dê uma resposta que mais se aproxime da maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.											
				Sempre	A maior parte do tempo	Boa parte do tempo	As vezes	Poucas vezes			
a) Por quanto tempo você se sente cheio de vigor, força, e animado?				1	2	3	4	5			
b) Por quanto tempo se sente nervosa(o)?				1	2	3	4	5			
c) Por quanto tempo se sente tão deprimido que nada pode animá-lo?				1	2	3	4	5			
d) Por quanto tempo se sente calmo ou tranqüilo?				1	2	3	4	5			
e) Por quanto tempo se sente com muita energia?				1	2	3	4	5			
f) Por quanto tempo se sente desanimado ou abatido?				1	2	3	4	5			
g) Por quanto tempo se sente esgotado?				1	2	3	4	5			

h) Por quanto tempo se sente uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5
i) Por quanto tempo se sente cansado?	1	2	3	4	5
10- Durante as últimas 4 semanas, por quanto tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram em suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?					
Sempre(1)	A maior parte do tempo (2)		Boa parte do tempo (3)	Poucas vezes(4)	Nunca(5)
11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?					
	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a) Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheça	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

SF-36/12s	Nome:				Número:	
1- Em geral você diria que sua saúde é:						
Excelente(1)	Muito Boa(2)		Boa(3)	Ruim(4)	Muito Ruim(5)	
2- Comparada há um ano, como você classificaria sua saúde em geral, agora?						
Muito Melhor(1)	Um Pouco Melhor(2)		Quase a Mesma(3)	Um Pouco Pior(4)	Muito Pior(5)	
3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. De acordo com a sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?						
Atividades			Sim, muita dificuldade	Sim, um pouco de dificuldade	Sem dificuldade	
a) Atividades vigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes intensos.			1	2	3	
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.			1	2	3	
c) Levantar ou carregar mantimentos			1	2	3	
d) Subir vários lances de escada			1	2	3	
e) Subir um lance de escada			1	2	3	
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se			1	2	3	
g) Andar mais de 1 Km			1	2	3	
h) Andar vários quarteirões			1	2	3	
i) Andar um quarteirão			1	2	3	
j) Tomar banho ou vestir-se			1	2	3	
4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas no seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?						
					Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?					1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?					1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades?					1	2
d) Teve dificuldade de executar seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra)?					1	2
5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como sentir-se deprimido ou ansioso)?						
					Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que dedicava-se ao seu trabalho ou a outras atividades?					1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?					1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.					1	2
6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?						
De forma nenhuma(1)		Ligeiramente(2)	Moderadamente(3)	Bastante(4)	Extremamente (5)	
7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?						
Nenhuma(1)	Muito Leve(2)	Leve(3)	Moderada(4)	Grave(5)	Muito Grave(6)	
8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?						
De maneira alguma(1)		Um pouco(2)	Moderadamente(3)	Bastante(4)	Extremamente(5)	
9- Para cada questão abaixo, por favor dê uma resposta que mais se aproxime da maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.						
	Sempre	A maior parte do tempo	Boa parte do tempo	As vezes	Poucas vezes	
a) Por quanto tempo você se sente cheio de vigor, força, e animado?	1	2	3	4	5	
b) Por quanto tempo se sente nervosa(o)?	1	2	3	4	5	
c) Por quanto tempo se sente tão deprimido que nada pode animá-lo?	1	2	3	4	5	
d) Por quanto tempo se sente calmo ou tranqüilo?	1	2	3	4	5	
e) Por quanto tempo se sente com muita energia?	1	2	3	4	5	
f) Por quanto tempo se sente desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	
g) Por quanto tempo se sente esgotado?	1	2	3	4	5	

h) Por quanto tempo se sente uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	
i) Por quanto tempo se sente cansado?	1	2	3	4	5	
10- Durante as últimas 4 semanas, por quanto tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram em suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?						
Sempre(1)	A maior parte do tempo (2)		Boa parte do tempo (3)		Poucas vezes(4)	Nunca(5)
11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?						
	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso	
a) Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5	
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheça	1	2	3	4	5	
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5	
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5	



INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO RIO GRANDE DO SUL  
FUNDAÇÃO UNIVERSITÁRIA DE CARDIOLOGIA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

*Porto Alegre, 30 de novembro de 2007.*

**Ao**  
**Pesquisador**  
**Daniel Medeiros Moreira**  
**Orientação**  
**Dr. Carlos Antônio Mascia Gottschall**  
**c/c**  
Coordenadora  
Divisão de Produção Científica  
Unidade de Pesquisa  
**Sra. Maria Del Carmem Stefani**  
Nesta Instituição

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ IC-FUC, analisou e discutiu o Projeto de Pesquisa 2007 *“Efeitos da Terapia com Metotrexato sobre a Capacidade Física de Pacientes com Insuficiência Cardíaca Isquêmica: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo”* - UP: 4062/07.

Orientação na Instituição: Dr. Carlos Antonio Mascia Gottschall

**Documentação:** Aprovada

**Aspectos Éticos:** Aprovados

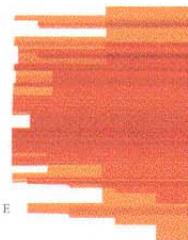
**Parecer final:** O estudo a ser desenvolvido será prospectivo, ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo com o objetivo de avaliar a capacidade de exercício físico através do teste da caminhada em pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia isquêmica submetidos ao tratamento com Metotrexato de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais especialmente as Resoluções 196/96 e complementares de Conselho Nacional de Ética em Saúde, obteve o parecer de **Aprovado**, neste CEP.

  
**ARI TADEU LIRIO DOS SANTOS**  
Presidente  
Comitê de Ética em Pesquisa  
IC/FUC

r. Princesa Isabel, 370 Bairro Santana - Porto Alegre - RS CEP: 90.620.001 - secretariageral-up@cardiologia.org.br



CONTROLE DA QUALIDADE



**Certificado de Análise – Número: MEDIC 3816/08-00**

<b>Insumo:</b> Cápsulas de metotrexato – 7,5 mg.	<b>Lote:</b> 25549.
<b>Cliente:</b> Biofórmula Farmácia de Manipulação Ltda – ME.	<b>Classe terapêutica:</b> Antineoplásico.
<b>End.:</b> Avenida Aniceto Zacchi, 645 - Loja 02 - Ponte do Imaruim - Palhoça – SC.	
<b>Fabricação:</b> 28/05/2008.	<b>Validade:</b> 24/11/2008.
<b>Quantidade de amostra:</b> 40 cápsulas.	<b>Embalagem:</b> Pote plástico.

**Dados da Matéria-Prima**

<b>Fornecedor:</b> Não consta.	<b>Lote:</b> Não consta.
<b>Fabricação:</b> Não consta.	<b>Validade:</b> Não consta.

**Análise Físico-química**

Ensaio	Especificação	Resultado
<b>Peso médio (conteúdo)</b>	Cápsulas até 300 mg podem apresentar um limite de variação de $\pm 10,0\%$ e cápsulas acima de 300 mg podem apresentar um limite de $\pm 7,5\%$ . Pode-se tolerar no máximo, duas unidades fora dos limites especificados, porém nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas.	De acordo. 172,72 mg. (C.V. = 2,04%).
<b>Identificação</b>	Espectrofotometria UV/Visível.	De acordo.
<b>Teor</b>	De 90,0% a 110,0% do valor rotulado.	92,03%.

**Conservação**

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e umidade.

**Referência bibliográfica**

Farmacopéia Brasileira IV, V.1.1.2.; British Pharmacopoeia 1993 Volume II, p. 1005.

**Comentários**

Os resultados encontrados somente se referem aos itens ensaiados e são restritos à amostra recebida na Ortofarma. A reprodução deste documento somente poderá ser feita integralmente e com a aprovação prévia e por escrito da mesma. A definição do ponto de coleta/plano de amostragem é de exclusiva responsabilidade do cliente.

**Parecer**

A amostra analisada atende às especificações acima descritas.

Matias Barbosa, 12 de junho de 2008.

  
 Roberta Guillarducci Fonseca  
 Farmacêutica  
 CRF-MG 16288



**A Randomization Plan - Daniel Medeiros Moreira**

100 subjects randomized into 25 blocks

To reproduce this plan, use the seed 11561

Randomization plan created on domingo, 9 de dezembro de 2007 18:54:41

1. Metotrexato	34. Metotrexato	67. Placebo
2. Placebo	35. Placebo	68. Metotrexato
3. Placebo	36. Metotrexato	69. Placebo
4. Metotrexato	37. Placebo	70. Placebo
5. Placebo	38. Placebo	71. Metotrexato
6. Metotrexato	39. Metotrexato	72. Metotrexato
7. Metotrexato	40. Metotrexato	73. Placebo
8. Placebo	41. Placebo	74. Placebo
9. Metotrexato	42. Metotrexato	75. Metotrexato
10. Metotrexato	43. Metotrexato	76. Metotrexato
11. Placebo	44. Placebo	77. Placebo
12. Placebo	45. Metotrexato	78. Metotrexato
13. Placebo	46. Placebo	79. Metotrexato
14. Metotrexato	47. Placebo	80. Placebo
15. Placebo	48. Metotrexato	81. Placebo
16. Metotrexato	49. Metotrexato	82. Metotrexato
17. Placebo	50. Placebo	83. Placebo
18. Metotrexato	51. Metotrexato	84. Metotrexato
19. Metotrexato	52. Placebo	85. Placebo
20. Placebo	53. Placebo	86. Metotrexato
21. Metotrexato	54. Metotrexato	87. Placebo
22. Metotrexato	55. Metotrexato	88. Metotrexato
23. Placebo	56. Placebo	89. Metotrexato
24. Placebo	57. Placebo	90. Metotrexato
25. Metotrexato	58. Placebo	91. Placebo
26. Placebo	59. Metotrexato	92. Placebo
27. Metotrexato	60. Metotrexato	93. Placebo
28. Placebo	61. Placebo	94. Metotrexato
29. Metotrexato	62. Placebo	95. Placebo
30. Placebo	63. Metotrexato	96. Metotrexato
31. Metotrexato	64. Metotrexato	97. Metotrexato
32. Placebo	65. Placebo	98. Placebo
33. Placebo	66. Metotrexato	99. Placebo

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)