

ROBERTO TADEU BARCELLOS BETTI

**Efeito da repaglinida sobre o
pré-condicionamento isquêmico**

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

Área de concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Whady Armino Hueb

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Betti, Roberto Tadeu Barcellos

Efeito da repaglinida sobre o pré-condicionamento isquêmico / Roberto Tadeu
Barcellos Betti. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Whady Armino Hueb.

Descritores: 1.Diabetes mellitus 2.Isquemia miocárdica 3.Pré-condicionamento
isquêmico

USP/FM/SBD-118/07

“Ciência sem Espiritualidade é loucura,
Espiritualidade sem Ciência é fanatismo”.

Thomas Edson

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Gila e Olavo, *in memoriam*. Eles me amaram, me orientaram, me mostraram a fé para vencer os obstáculos da vida.

À minha filha Daniella, maior estímulo da minha vida, em quem eu consegui descobrir a pureza do amor.

À Estelita, pela sinceridade e honestidade, pelo companheirismo, pelo afeto e carinho.

Aos meus irmãos, Olavo e Felipe, por nossa amizade e respeito.

Ao Prof. Dr. Whady Armindo Hueb, pelo exemplo de dedicação, pelo incentivo, pelos ensinamentos e pela confiança que depositou em mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Bernardo Léo Wajchenberg, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pela ajuda e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Paulo Jorge Moffa, pela especial e fundamental ajuda para a realização desta tese.

Ao Dr. Augusto H. Uchida, pela dedicação e ajuda na realização desta tese.

À Profa. Dra. Neuza Helena Lopes, pela amizade, pelo estímulo e por seus conhecimentos médicos.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Lerario, pela amizade, estímulo e companheirismo.

Ao Prof. José Antonio Ramires, pelo estímulo e por seu espírito empreendedor no Instituto do Coração.

À Profa. Dra. Denise Hachul, pela ajuda e pela valiosa opinião.

À Dra. Leticia de Araújo Ferri e à Dra. Rosa Maria Rahmi Garcia, pela ajuda, amizade e incentivo.

Ao Dr. Aécio Flávio Teixeira de Góes e ao Dr. Jorge Chiquie Borges, pelo grande incentivo e apoio.

Às enfermeiras Célia Regina Simões da Rocha Nogueira, Myrthes Emy Takiuti, Priscyla Myamoto Girardi e Teryo Nakano, pela grande ajuda e amizade.

Às secretárias Eliana Olívio Lima, Giovana Luzia Carrasqueira, Laura Caringe e Marineuza Gomes Rangel, pela ajuda e dedicação.

A todos aqueles – cujos nomes seria impossível listar aqui – que, de uma forma ou de outra, colaboraram na realização desta tese.

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTAS	xii
Abreviações e símbolos	xiii
Figuras	xiv
Tabelas	xv
RESUMO	xvi
SUMMARY	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Pré-condicionamento isquêmico	2
1.2 Canais de potássio dependentes de ATP	8
1.3 Diabetes <i>mellitus</i> e doença arterial coronariana	10
2 OBJETIVO	13
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
3.1 Casuística	16
3.1.1 População estudada	16
3.2 Método	18
3.2.1 Protocolo de estudo	18
3.2.2 Análise estatística	23
4 RESULTADOS	25
4.1 Variáveis clínicas da população estudada	26
4.2 Variáveis eletrocardiográficas durante o exercício	27
4.3 Variáveis fisiológicas durante o exercício	29
4.4 Variáveis clínicas durante o exercício	34
4.5 Variáveis eletrocardiográficas na fase de recuperação após o exercício	37
5 DISCUSSÃO	38
5.1 Implicações clínicas	42
6 CONCLUSÃO	45
7 REFERÊNCIAS	47

LISTAS

ABREVIações E SÍMBOLOS

ATP	Trifosfato de Adenosina
DA	Artéria Descendente Anterior
bat	batimentos
DAC	Doença Arterial Coronariana
dl	decilitro
ECG	Eletrocardiograma
FC	Freqüência cardíaca
H	hidrogênio
Hg	mercúrio
K	potássio
Kir.x	do inglês <i>inwardly rectifying k⁺ channels</i>
MASS	do inglês <i>medical, angioplasty and surgical study</i>
mg	miligramas
mm	milímetro
min	minutos
P	nível descritivo de probabilidade
SUR	do inglês <i>sulfonylurea receptors</i>

FIGURAS

	página
Figura 1 - Tempo para alcançar a isquemia	28
Figura 2 - Tempo de exercício	30
Figura 3 - Pressão arterial sistólica máxima	31
Figura 4 - Frequência cardíaca máxima	32
Figura 5 - Duplo produto	33
Figura 6 - Momento da angina.....	34
Figura 7 - Pressão arterial sistólica no momento da angina	35
Figura 8 - Frequência cardíaca no momento da angina	36

TABELAS

	página
Tabela 1 - Características basais dos 42 pacientes estudados	19
Tabela 2 - Variáveis dos tempos para alcançar isquemia dos pacientes nas fases 1 e 2	27
Tabela 3 - Variáveis dos tempos de exercícios alcançados pelos pacientes nas fases 1 e 2	29
Tabela 4 - Alterações no ECG nas fases de recuperação após o exercício	37

RESUMO

Betti RTB. *Efeito da repaglinida sobre o pré-condicionamento isquêmico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 57p.

Introdução: O aumento da tolerância do miocárdio isquêmico observado durante o segundo de dois testes de esforços seqüenciais, o fenômeno do pré-aquecimento, foi proposto como um modelo clínico do pré-condicionamento isquêmico. Bloqueadores dos canais de K-ATP dependentes, tais como as sulfoniluréias, podem induzir a perda do pré-condicionamento isquêmico, o qual poderia estar envolvido no aumento dos eventos cardiovasculares. A repaglinida é um agente hipoglicemiante oral, pertencente à família da meglitinida e supostamente dotada de menor efeito no pré-condicionamento isquêmico, ainda que o fármaco tenha seu principal mecanismo de ação nos canais de K-ATP dependentes. **Objetivos e Métodos:** O objetivo foi investigar os efeitos da repaglinida no fenômeno do pré-condicionamento isquêmico em pacientes diabéticos com doença coronariana estável. Foram estudados 42 pacientes diabéticos tipo 2, com angina estável e doença arterial documentada. Todos os pacientes tinham testes ergométricos positivos para isquemia. Na primeira fase do teste, a sulfoniluréia e os betabloqueadores foram suspensos por trinta dias e sete dias, respectivamente. Os pacientes foram submetidos a dois testes ergométricos seqüenciais, com intervalo de trinta minutos (testes 1 e 2). Na segunda fase, os pacientes receberam repaglinida por sete dias e mais dois testes ergométricos foram repetidos (testes 3 e 4). **Resultados:** Todos os pacientes alcançaram ST >1 mm na primeira fase (Teste 1 e 2). O tempo alcançado no teste 2 foi maior que aquele alcançado no teste 1 (4:44s. x 5:37s. p=0,001), como também foi maior a duração do exercício (6:15s x 6:29s. p=0,008), denotando pré-condicionamento isquêmico. Após o uso da repaglinida, nos testes 3 e 4, observou-se menor tempo alcançado para atingir isquemia no teste 4 (5:37s. x 4:58s. p=0,001). Observou-se, ainda, menor tempo de tolerância ao exercício na fase 2 (6:57s x 6:34s. p=0,007). Em relação ao surgimento de angina, não se constataram diferenças estatísticas entre as duas fases. **Conclusão:** Nos pacientes diabéticos com doença coronariana estável, a repaglinida bloqueou o pré-condicionamento isquêmico.

Descritores: diabetes *mellitus*, isquemia miocárdica, pré-condicionamento isquêmico

SUMMARY

Betti RTB. *The effect of repaglinide on ischemic preconditioning* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2007. 57p.

Background: The increase of tolerance to myocardial ischemia observed during the second of two sequential exercise tests, the warm-up phenomenon, has been proposed as a clinical model of ischemic preconditioning. Blockers of K-ATP channels, such as the Sulfonylurea drugs, can induce loss of ischemic preconditioning, what could be involved in an increase of cardiac events. Repaglinide is a hypoglycemic agent with supposedly lower influence on ischemic preconditioning, despite acting in K-ATP channels. **Objectives and Methods:** This study investigated the effects of repaglinide on the ischemic preconditioning in diabetic patients with CAD. There were 42 patients and inclusion criteria were positive treadmill test for myocardial ischemia. Sulphonylureas and beta-blocking agents were withdrawn 30 and 7 days respectively before phase 1 of the study. In this phase, the patients underwent two consecutive treadmill exercise tests at 30 minute intervals (test 1 and test 2). In phase 2 of the study, all patients received repaglinide 2 mg three times daily during 7 days before treadmill exercise test (test 3 and test 4). **Results:** All patients achieved 1.0 mm ST-segment depression during phase 1. The time achieved to ST depression during test 2 was greater than that during test 1 (4:44s vs. 5:37s. $p=0.001$) as well as the duration of the exercise (6:15s vs. 6: 29s. $p=0.008$), suggesting a higher ischemic threshold. In phase 2 after repaglinide, all patients achieved 1 mm ST-segment depression. However, the time achieved to ST depression, as well as the duration of the exercise, was lower in test 4 comparing with test 3. There were no statistical differences regarding angina episodes in phase 1 or phase 2. **Conclusions:** In diabetic patients with stable coronary disease, the oral hypoglycemic agent repaglinide abolished the myocardial ischemic preconditioning.

Descriptors: diabetes *mellitus*, myocardial ischemia, myocardial ischemic preconditioning.

1 INTRODUÇÃO

1.1 PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO

Conceitua-se pré-condicionamento isquêmico o fenômeno em que um ou vários episódios curtos de isquemia, separados por períodos curtos de reperfusão levam a uma diminuição da necrose das células miocárdicas as quais são, posteriormente, submetidas a um episódio isquêmico prolongado. O pré-condicionamento isquêmico foi descrito inicialmente por Murry em 1986, em estudos com cães. Os cães foram submetidos a quatro períodos de cinco minutos de isquemia coronariana sucedidos por cinco minutos de reperfusão, o que induziu uma redução de 75% do tamanho do infarto após um período de isquemia de quarenta minutos, quando se comparou com o grupo de controle em que a isquemia prolongada não foi precedida de episódios de isquemia e reperfusão ^(1,2). Outra condição clinicamente associada ao pré-condicionamento

isquêmico é o fenômeno do pré-aquecimento ou *warm up*, relatado por pacientes cujos sintomas anginosos precoces, após exercícios físicos, cessam depois de breve período de repouso e reinício do esforço ⁽¹⁾. O pré-condicionamento isquêmico tem algumas características. Em estudos em cães, observou-se que ele retarda a necrose em situação de isquemia prolongada com duração de quarenta a sessenta minutos; porém, o benefício deixa de existir quando esse tempo é superior a noventa minutos. O limiar de tempo necessário para induzir os benefícios do pré-condicionamento isquêmico é de 2,5 a dez minutos. Um tempo inferior a dois minutos não é suficiente para gerar proteção ⁽³⁾. A transitoriedade é outra característica desse fenômeno. Se houver aumento do intervalo de tempo entre episódios de isquemia/reperfusão e a isquemia prolongada, existirá perda do benefício do pré-condicionamento isquêmico.

Existe uma forma de benefício mediada pelo pré-condicionamento isquêmico e que se manifesta mais tardiamente, em geral 24 horas após a sua indução, conhecida como a “segunda janela de proteção” do pré-condicionamento isquêmico, a qual parece ser mediada por mecanismos diferentes daqueles relacionados com a fase precoce.

O pré-condicionamento isquêmico tem sido demonstrado em pacientes com doença coronária^(1,4). Por razões óbvias, o pré-condicionamento clássico que reduz a área enfartada não pode ser demonstrado experimentalmente no homem. Entretanto, a presença de angina prévia confere benefícios importantes na redução da área de miocárdio enfartado, de insuficiência cardíaca e de mortalidade. Essas observações clínicas têm sido atribuídas ao pré-condicionamento isquêmico. Além disso, sustentando o papel adaptativo do pré-condicionamento, tem-se verificado aumento da tolerância do miocárdio à isquemia durante insuflações repetidas na angioplastia coronária^(5,6), na cirurgia de revascularização miocárdica⁽⁷⁾, através do clampeamento da aorta e, também, em estudos observacionais^(8,9). Os pacientes, frente ao segundo evento isquêmico, apresentam dor anginosa de menor intensidade, menor depressão do segmento ST ao eletrocardiograma, menor produção de lactato e menor depleção de ATP⁽¹⁰⁾.

A observação clínica do pré-condicionamento isquêmico tem sido documentada em vários estudos que utilizam estimulação atrial ou testes de esforço seriados. Okazaki *et al.*

estudaram 13 pacientes com doença coronariana esquerda realizando dois testes de esforço seriados, intercalados com 15 minutos de repouso. Verificou-se que, no segundo teste, com a mesma carga de esforço, foram menores os sintomas anginosos, a depressão do segmento ST e o consumo miocárdico de oxigênio⁽¹¹⁾. Stewart *et al.* avaliaram 18 pacientes portadores de angina estável e os submeteram a testes de esforço seqüenciais, com intervalos de dez e de trinta minutos entre os exames. Houve redução da gravidade da isquemia miocárdica ao esforço após repouso de dez minutos, com menor intensidade quando o intervalo foi de trinta minutos⁽¹²⁾.

Os mecanismos envolvidos na ocorrência do pré-condicionamento isquêmico não estão completamente elucidados. Vários já foram propostos, tais como: estimulação do receptor de adenosina⁽¹³⁾, ativação dos canais de potássio dependentes de ATP⁽¹⁴⁾, estimulação alfa adrenérgica, ativação e translocação da proteína quinase C⁽¹⁵⁾ e a depleção de glicogênio⁽¹⁶⁾. Pesquisas preliminares atribuíam o aumento de fluxo à atuação de colaterais que poderia ser induzida pelos curtos episódios de isquemia, o que foi descartado em estudos realizados em cães, em que se observou o benefício do pré-

condicionamento isquêmico sem que houvesse recrutamento de colaterais⁽³⁾.

Uma outra teoria, a estimulação dos receptores de adenosina, tentou explicar os benefícios do pré-condicionamento isquêmico a partir da hipótese da existência de mediadores que seriam induzidos nos episódios de isquemia e reperfusão. Um estudo *in vivo* observou que o pré-condicionamento isquêmico era suprimido através do bloqueio não seletivo dos receptores de adenosina e que esse era mimetizado *in vitro* através da exposição transitória do coração à adenosina e a um agonista do receptor A1 da adenosina. Por outro lado, a estimulação de receptores A2 não mimetizou os benefícios do pré-condicionamento isquêmico. Acredita-se que a liberação da adenosina na isquemia e reperfusão ative receptores A1 e A3 e que eles, por meio de mediadores, promovam a ativação de vias, como as que envolvem os canais de potássio dependentes de ATP e a proteína quinase C⁽¹⁷⁾.

Em relação à depleção de glicogênio da célula miocárdica, os episódios de isquemia do pré-condicionamento depletariam os estoques de glicogênio miocárdico e, durante a

isquemia prolongada que se sucede, haveria menor disponibilidade de substrato para glicólise anaeróbica e, portanto, menor acúmulo de lactato e íons H⁺ e menor acidose intracelular, e a redução do acúmulo de prótons diminui a injúria isquêmica. A atenuação da acidose já foi observada nos corações pré-condicionados. Soares demonstrou, em corações isolados de ratos submetidos ao pré-condicionamento isquêmico, que o nível de glicogênio pré-isquemia influencia a acidose, mas não é seu único determinante⁽¹⁸⁾.

Os canais de potássio dependentes ATP vêm mostrando importância como mediadores do pré-condicionamento isquêmico. Esses canais têm como principal função a modulação da liberação de insulina pelas células beta do pâncreas. No coração, os referidos canais foram inicialmente descritos no sarcolema dos miócitos, descrição feita por Noma em 1983⁽¹⁹⁾.

1.2 CANAIS DE POTÁSSIO DEPENDENTES DE ATP

Os canais de potássio são proteínas de membrana com permeabilidade seletiva ao potássio e representam os maiores e mais diversos grupos de qualquer família de canais iônicos identificados. Os canais de potássio são formados por combinações tetraméricas de subunidades individuais, cada uma delas com dois domínios transmembranas com segmentos citoplasmáticos, entre os quais se encontra a região formadora de poros. O canal de potássio-ATP apresenta duas subunidades específicas: o canal K (Kir6.X) e o receptor de sulfoniluréia (SURx). Existem várias combinações Kir6.X / SUR com diferenças biofísicas e farmacológicas em vários tecidos. Na célula beta do pâncreas, a combinação é Kir6.2 / SUR 1; nos cardiomiócitos, Kir6.2 / SUR 2A; nos miócitos vasculares, Kir6.1 / SUR 2B. A presença desses canais na membrana das mitocôndrias já foi descrita e eles também atuam no pré-condicionamento isquêmico.

No pâncreas, a inibição da liberação de insulina é produzida por agentes que abrem os canais K ATP, como o

diazóxido. A abertura dos canais de potássio hiperpolariza a célula beta, e os canais de cálcio permanecem fechados. É uma condição de repouso da célula, encontrada quando o nível de glicose está baixo.

De modo contrário, o aumento da secreção de insulina é produzido por agentes que fecham os canais K^+ ATP, como a sulfoniluréias e as meglitinidas. O fechamento dos canais de potássio despolariza a célula beta, os canais de cálcio abrem-se com influxo de cálcio para dentro da célula e liberação de insulina. É uma condição de célula ativa, encontrada quando o nível de glicose está alto.

No músculo cardíaco, normalmente os canais K^+ ATP estão fechados e abrem-se em condições de *stress* metabólico intenso, como a hipóxia. Em função da queda da concentração citosólica de ATP, o efluxo de potássio resultante leva a uma hiperpolarização da membrana celular, com encurtamento do potencial de ação e declínio da amplitude da contração miocárdica. A hidrólise do ATP provoca um aumento dos níveis de adenosina intracelular, e esses atravessam a membrana celular e estimulam receptores específicos na face externa da

membrana. Um subtipo desses receptores, o A1, tem sido relacionado com os canais de potássio dependentes de ATP; portanto, durante a isquemia, esses canais são abertos tanto por efeito da queda da concentração do ATP como por estímulo dos receptores de adenosina. A abertura dos canais de potássio dependentes de ATP é um mecanismo de proteção do miocárdio contra lesões de isquemia e reperfusão.

A repaglinida, que é um derivado carbamoilmetil do ácido benzóico, tem uma grande afinidade em fechar os canais de potássio da célula beta pancreática (Kir6.2 / SUR1), do miócito (Kir6.2 / SUR2A) e dos miócitos vasculares (Kir6.1 / SUR2B), podendo, nesse contexto, ter potencial de redução no pré-condicionamento isquêmico ⁽²⁰⁾.

1.3 DIABETES *MELLITUS* E DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA

O diabetes *mellitus* do tipo 2 atingiu proporções epidêmicas em todo o globo. Existe cerca de 180 milhões de indivíduos em todo o mundo com tal afecção, sendo que, no

Brasil, a prevalência é de 7,8%. A doença arterial coronariana é a maior causa de morbidade e mortalidade nos pacientes com diabetes *mellitus*. O diabetes dobra o risco para doença cardiovascular em homens e triplica em mulheres, e tem uma maior incidência de doença coronariana multiarterial. A associação da doença arterial coronariana (DAC) com o diabetes *mellitus* do tipo 2 parece eliminar os efeitos benéficos do pré-condicionamento isquêmico no miocárdio frente à isquemia (21,22,23).

Com o progresso no tratamento do diabetes *mellitus*, têm surgido novas drogas como a repaglinida. Da mesma forma que as sulfoniluréias, ela atua mediante estimulação da liberação de insulina a partir das células beta das ilhotas pancreáticas. Ela age sobre um único sítio receptor da membrana da célula beta, sendo que a inibição dos canais de potássio sensíveis ao ATP parece ser o único mecanismo através do qual a repaglinida estimula a secreção de insulina na presença de glicose.

Propõe-se que essa droga, comparada com as sulfoniluréias, traga benefícios em relação a menos episódios de hipoglicemia, maior controle da glicemia pós-prandial e menor

deterioração das células beta, por apresentar um menor período de estimulação. Após uma dose única oral de repaglinida (2 mg), a concentração máxima circulante é encontrada em sessenta minutos, retornando ao basal após quatro horas. É metabolizada no fígado em metabólitos inativos, e a via primária de eliminação da repaglinida e de seus metabólitos é a excreção biliar-fecal^(24,25).

Desde a sua introdução em 1995, a repaglinida não tem sido associada à ocorrência de eventos isquêmicos ou à maior morbi-mortalidade cardiovascular; porém, em um estudo em animal, a repaglinida revelou interagir com os três tipos de canais K⁺ ATP, o das células beta pancreática, o dos miócitos e o dos miócitos vasculares, inibindo-os⁽²⁶⁾. Não se conhece seu papel no pré-condicionamento isquêmico em humanos.

2 OBJETIVO

Avaliar o efeito da repaglinida sobre o pré-condicionamento isquêmico em pacientes diabéticos, com doença multiarterial coronariana estável.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 CASUÍSTICA

3.1.1. População estudada

Dentre os cinquenta pacientes pertencentes ao banco de dados do projeto de estudo MASS (*Medical, Angioplasty and Surgical Study*) com diagnóstico clínico e laboratorial de diabetes *mellitus* e doença multiarterial coronariana estável, confirmada por estudos cinecoronariográficos e isquemia de esforço induzido, foram selecionados para este estudo 42 pacientes que preencheram os critérios abaixo indicados.

Para inclusão:

- angina estável,
- função ventricular preservada,
- diabetes *mellitus* tipo 2, compensada sob tratamento medicamentoso.

Para não inclusão:

- angina instável,
- infarto agudo do miocárdio nos últimos seis meses,
- miocardiopatia dilatada ou hipertrófica,
- estenose aórtica,
- limitações motoras impedindo a realização do exame,
- presença de alterações eletrocardiográficas limitando a análise para definição de isquemia miocárdica.

Os pacientes foram orientados no sentido de não fumarem e de não ingerirem chá ou café no dia do exame. Além disso, foram orientados para suspender as medicações de efeito inotrópico, cronotrópico ou vasoativo durante trinta dias e hipoglicemiantes orais durante sete dias, respectivamente, antes

do exame. Para o controle da glicemia, recomendou-se o uso de insulina quando necessário.

3.2 MÉTODO

3.2.1 Protocolo de estudo

Fase I - Após a retirada dos medicamentos, os cinquenta pacientes foram submetidos a dois testes ergométricos (T1 e T2), de forma seqüencial e com intervalo de trinta minutos entre os dois exames. Os 42 (84%) pacientes que alcançaram o pré-condicionamento foram, então, encaminhados para a segunda fase do estudo. Dessa amostra, 37 pacientes (88%) eram do sexo masculino e a idade média foi de $61 \pm 9,3$ anos. Os dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e angiográficos encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 - Características basais dos 42 pacientes estudados

Demográficas	
Idade (anos)	61,26 ± 9,32
Sexo masculino	37 (88%)
Tabagismo	09 (24%)

Clínicas: n pacientes (% pacientes)	
Hipertensão arterial	15 (36%)
Infarto do miocárdio prévio	17 (45%)

Laboratoriais	
Colesterol total (mg/dL)	213,19 ± 51,93
LDL-Colesterol (mg/dL)	139,67 ± 41,89
HDL-Colesterol (mg/dL)	40,98 ± 8,62
Triglicérides (mg/dL)	202,02 ± 118,85
Glicemia (mg/dL)	154,74 ± 42,16

Angiográficas	
Biarterial	14 (33%)
Triarterial	28 (67%)
Envolvimento da DA	40 (95%)
Fração de ejeção (%)	63,75 ± 6,83

DA= artéria descendente anterior

Fase II - Todos os pacientes selecionados iniciaram o uso de repaglinida com dose diária de 2 mg três vezes ao dia, antes das principais refeições, durante sete dias. No sétimo dia, os pacientes foram submetidos a dois testes de esforço seqüenciais (T3 e T4), com intervalo de trinta minutos entre os dois exames. O primeiro teste teve início às 13 horas e os pacientes fizeram uma alimentação leve às 12 horas, com a tomada de 2 mg de repaglinida imediatamente antes de iniciar a alimentação. A dieta era composta de um pão francês com uma fatia de queijo branco, um copo de leite integral e uma barra de cereal *light*, totalizando 403 calorias com 56 gramas de carboidrato ^(27,28).

Os testes foram considerados sintomas-limitados, adotando-se o protocolo de Bruce em todos os exames.

O ergômetro utilizado foi a esteira rolante MAT 2100, acoplada ao sistema ML 800 *Stress Test System* da Fukuda Denshi Co. Ltda.

O sistema de registro eletrocardiográfico adotado foi o de 15 derivações simultâneas, sendo 12 derivações clássicas do sistema Mason - Likar e três derivações do sistema ortogonal de

Frank (X,Y,Z). A monitorização eletrocardiográfica foi realizada sistematicamente no repouso (em pé), no momento inicial das alterações do segmento ST, no momento da maior alteração desse segmento, no pico do esforço, no primeiro minuto da recuperação, no momento da normalização do desvio do segmento ST e no sexto minuto após o exercício. A aferição da pressão arterial ocorreu sistematicamente a cada noventa segundos, no pico do esforço, no momento de maior alteração do segmento ST e a cada minuto da fase pós-exercício.

A frequência cardíaca foi monitorizada continuamente e documentada a cada 15 segundos. A frequência cardíaca máxima desejada foi calculada pela fórmula $(220 - \text{idade})$ em anos. Os critérios de interrupção do exame e os de positividade adotados foram aqueles recomendados pelas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia⁽²⁹⁾. A monitorização da fase de recuperação teve a duração de seis minutos ou foi interrompida após a reversão total das alterações eletrocardiográficas e/ou hemodinâmicas.

Para a análise dos dados clínicos, hemodinâmicos e eletrocardiográficos, foram observados os critérios abaixo apresentados.

Capacidade funcional: o tempo total de exercício foi considerado como o tempo total de esforço, aferido em segundos.

Dados hemodinâmicos: a pressão arterial sistólica máxima foi aferida em mmHg no pico do esforço físico. A frequência cardíaca máxima atingida foi aferida em batimentos por minuto, no pico do esforço físico. O duplo produto máximo foi calculado pelo produto da pressão arterial sistólica máxima e da frequência cardíaca máxima atingida.

Dados eletrocardiográficos: a magnitude do infradesnivelamento do segmento ST foi medida em milímetros e classificada em três categorias: inferior a 1,0 mm; entre 1,0 a 1,9 mm ou superior a 2,0 mm. A magnitude do supradesnivelamento do segmento ST foi medida em milímetros e classificada em três categorias: zero, até 1,0 mm e superior a 1,0 mm. A morfologia do infradesnivelamento do segmento ST foi classificada em três padrões: horizontal, descendente ou ascendente. O tempo considerado para o desnível do segmento ST foi medido em

segundos e utilizado para a documentação do infradesnivelamento do segmento ST de morfologia horizontal ou descendente, com magnitude de pelo menos 1,0 mm. A confirmação visual foi realizada por dois cardiologistas experientes e independentes, estranhos ao protocolo, com base na análise dos pontos referenciais J e Y. O ponto Y foi considerado a oitenta milissegundos do ponto J.

Dados clínicos: a angina do peito foi qualificada e quantificada por dois cardiologistas experientes e considerada no exato momento do relato e o duplo produto, no momento inicial em que a angina foi referida. A classificação de intensidade da dor anginosa obedeceu à seguinte classificação: ausente, muito leve, leve, moderada, forte e limitante (quando motivou a interrupção do exame).

3.2.2 Análise estatística

As variáveis foram apresentadas descritivamente, em tabelas contendo média e desvio padrão.

As medidas das variáveis mensuradas em mais de uma condição de avaliação foram avaliadas com análise de variância para medidas repetidas. Foram testadas três hipóteses básicas:

- hipótese 1: os perfis de médias são paralelos, ou seja, o comportamento dos grupos é igual ao longo do tempo;
- hipótese 2: os perfis de média são coincidentes, ou seja, não existe diferença de médias entre os grupos;
- hipótese 3: não há efeito de tempo, ou seja, os perfis são paralelos ao eixo das abscissas.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos ⁽³⁰⁾.

4 RESULTADOS

4.1 VARIÁVEIS CLÍNICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Dos cinquenta pacientes selecionados para este estudo, seis não reproduziram isquemia no primeiro teste, um desenvolveu fibrilação atrial e outro foi acometido de crise hipertensiva sendo, por isso, foram excluídos do protocolo (16%).

Foram selecionados 42 pacientes.

4.2 VARIÁVEIS ELETROCARDIOGRÁFICAS DURANTE O EXERCÍCIO

Dos 42 pacientes selecionados que alcançaram o pré-condicionamento isquêmico e admitidos como aqueles que desenvolveram isquemia em tempo superior ao alcançado no teste 1 da fase 1, sete não responderam ao bloqueio do fármaco no teste 4 da fase 2. Tabela 2.

Tabela 2 - Variáveis dos tempos para alcançar isquemia dos pacientes nas fases 1 e 2

	N	Fase 1			Fase 2		
		T1	T2	p	T3	T4	p
		Tempo (min)			Tempo (min)		
Bloqueio: +	35	4:44 ± 1:54	5:37±2:00	0,001	5:37±2:01	4:58±1:47	0,001
Bloqueio: -	7	3:50 ±1:14	5:17±1:42	0,004	4:07±1:45	4:59±1:32	NS

N= número de pacientes; T= teste de esforço (1, 2, 3 e 4); p= nível descritivo de probabilidade

Quando se compararam os resultados da *performance* do grupo relacionado com resposta positiva ao bloqueio, 35 pacientes, observou-se diferença estatisticamente significativa dos resultados $p < 0,001$. Figura1.

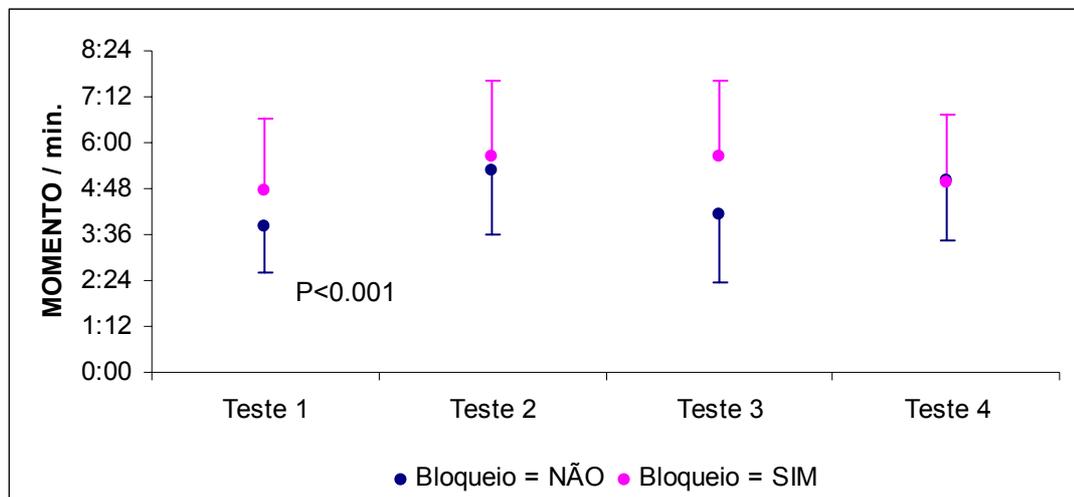


Figura 1 - Tempo para alcançar a isquemia

4.3 VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS DURANTE O EXERCÍCIO

Quando se avaliaram os tempos de exercício realizados pelos pacientes na fase 1 e também na fase 2, observou-se diferença significativa entre os pacientes que sofreram o bloqueio do fármaco $p=0,0074$. Tabela 3.

Tabela 3- Variáveis dos tempos de exercício alcançados pelos pacientes nas fases 1 e 2

	N	Fase 1			Fase 2		
		T1	T2	p	T3	T4	p
		Tempo (min)			Tempo (min)		
Bloqueio: +	35	6:15 ± 1:49	6:29 ± 1:45	0,008	6:57 ± 1:53	6:34 ± 2:00	0,007
Bloqueio: -	7	5:30 ± 1:39	6:04 ± 1:38	NS	5:31 ± 1:52	6:23 ± 1:39	NS

N= número de pacientes; T= teste de esforço (1, 2, 3 e 4); p= nível descritivo de probabilidade; NS= sem significância estatística

Mesmo quando se analisaram os tempos de exercício realizados nos testes 1 e 3, respectivamente sem o uso do fármaco e após a administração do mesmo, observou-se diferença estatisticamente significativa nos resultados $p < 0,001$.

Figura 2.

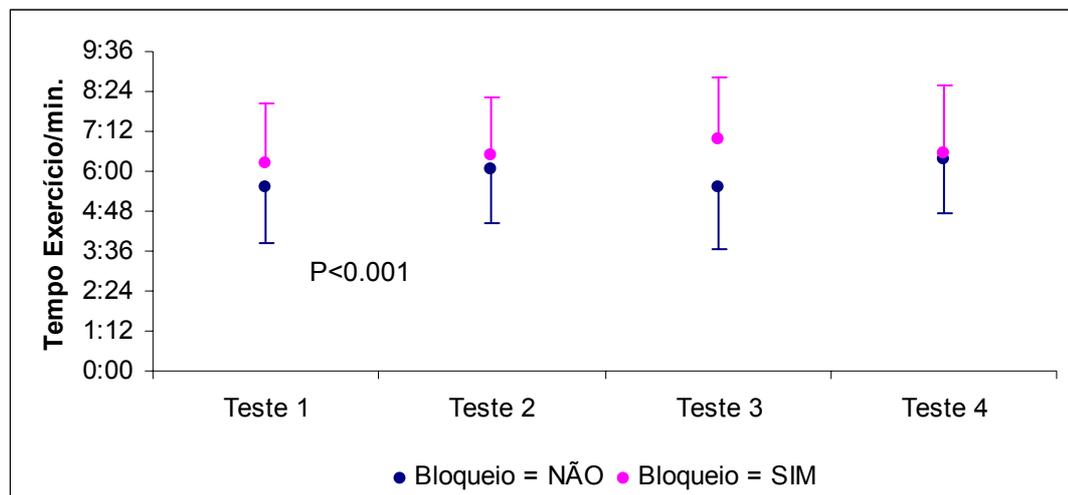


Figura 2 - Tempos de exercícios

A análise da pressão arterial sistólica durante o exercício entre os pacientes que sofreram ou não interferência do fármaco nas fases 1 e 2, não revelou nenhuma diferença estatística de valores. Figura 3.

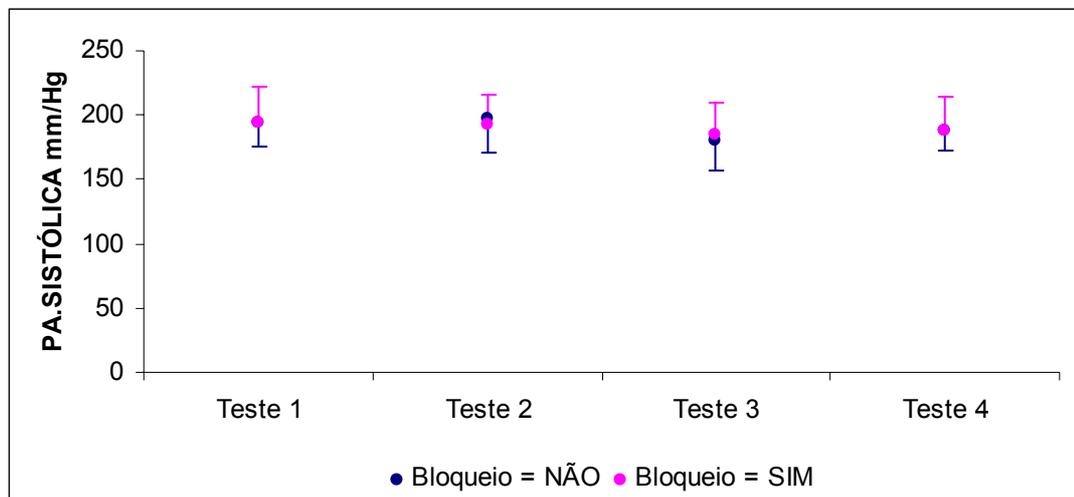


Figura 3 - Pressão arterial sistólica máxima

Da mesma forma que em relação à pressão arterial, não se observou nenhuma alteração significativa quanto à frequência cardíaca máxima, quando se compararam os dois grupos que apresentaram respostas diferentes ao fármaco. Figura 4.

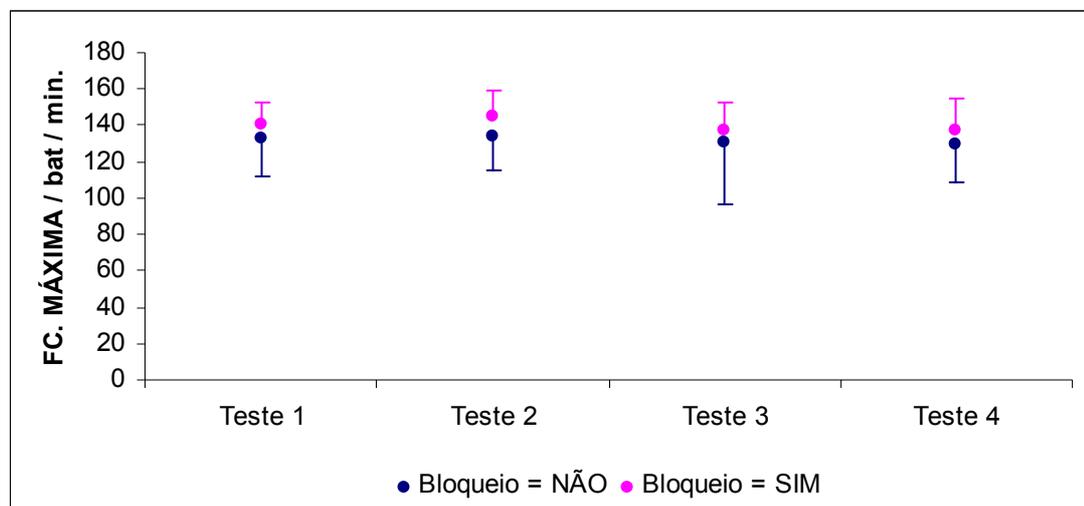


Figura 4 - Frequência cardíaca máxima

Por outro lado, quando se comparou o duplo produto dos pacientes que revelaram bloqueio do pré-condicionamento isquêmico com o uso do fármaco, observou-se diferença estatística entre os testes 1 e 3 ($p=0,0083$) antes da administração da droga, bem como se constatou um bloqueio acentuado desse índice nos testes 3 e 4 após a administração da droga, confirmando o efeito nessa condição $p=0,1996$. Figura 5.

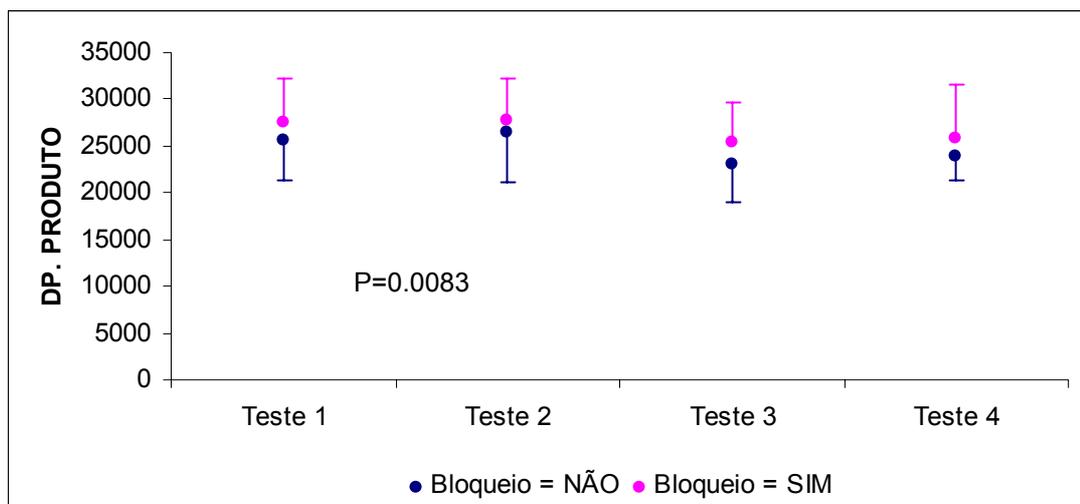


Figura 5 - Duplo produto

4.4 VARIÁVEIS CLÍNICAS DURANTE O EXERCÍCIO

A análise do surgimento de sintomas anginosos durante o exercício nas fases 1 e 2, tanto no grupo sensível a droga quanto no grupo não sensível, não revelou diferença estatisticamente significativa entre si. Figura 6.

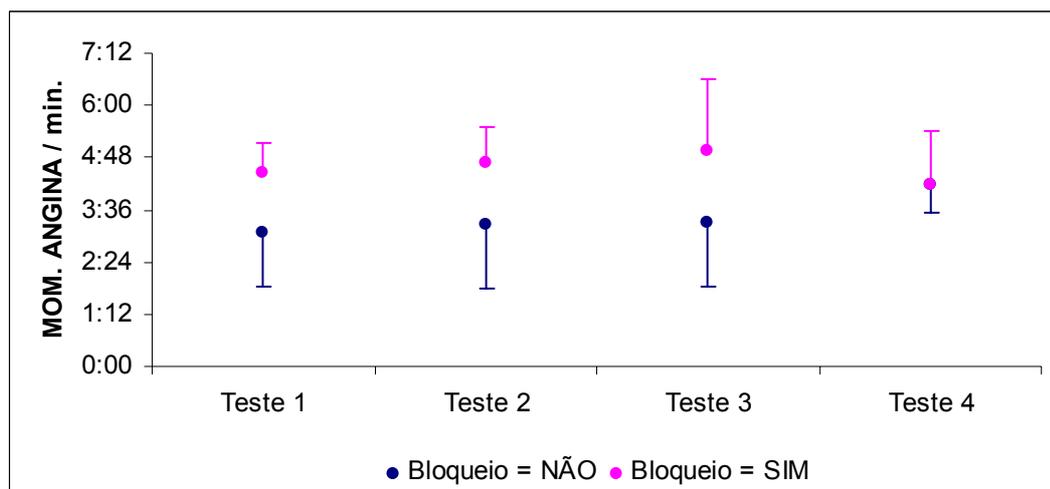


Figura 6 - Momento do surgimento da angina

Em relação à aferição da pressão arterial no momento do surgimento dos sintomas, não houve alteração das medidas no grupo sensível e no não sensível à droga. Figura 7.

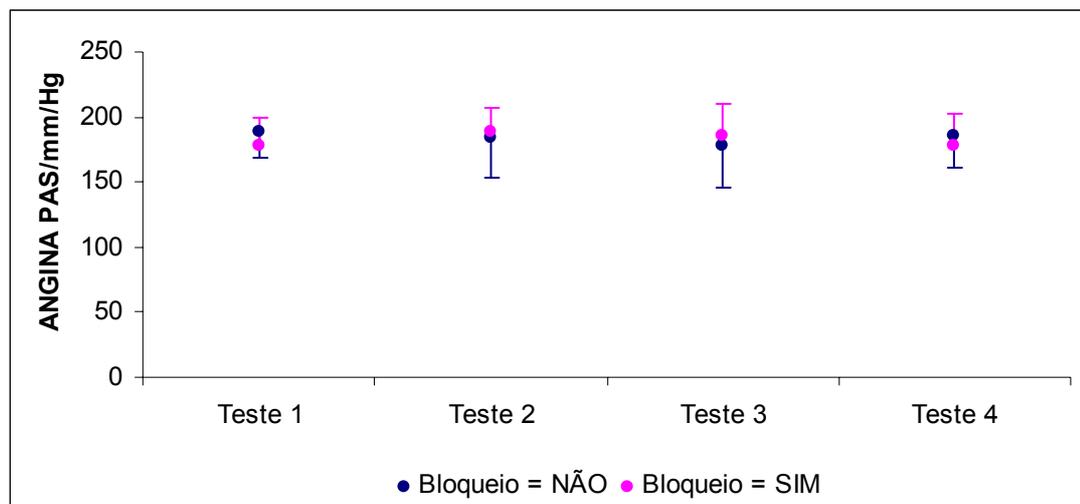


Figura 7 - Pressão arterial sistólica no momento da angina

O comportamento da frequência cardíaca observado durante o surgimento dos sintomas não revelou alterações significativas nos grupos e nas diferentes fases do estudo. Figura 8.

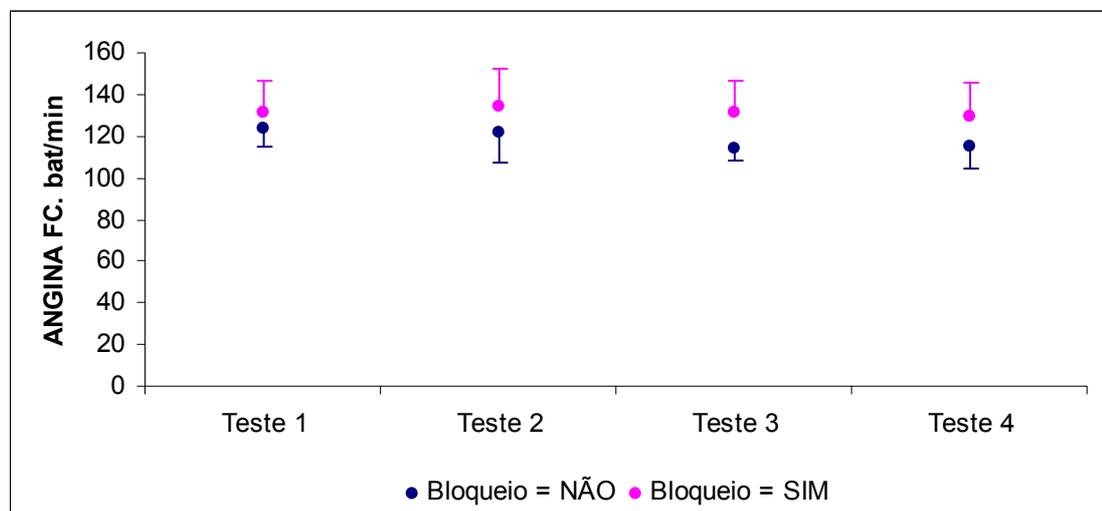


Figura 8 - Frequência cardíaca no momento da angina

4.5 VARIÁVEIS ELETROCARDIOGRÁFICAS NA FASE DE RECUPERAÇÃO APÓS O EXERCÍCIO

A análise das alterações do ritmo cardíaco e do segmento ST nas fases de recuperação após o exercício, revelou presença estatisticamente significativa dessa condição, quando se compararam os pacientes submetidos aos exames com e sem o uso do fármaco $p=0,031$. Tabela 4.

Tabela 4 - Alterações no ECG nas fases de recuperação após o exercício

	T1	T2	T3	T4
ST Supradesnivelado	1	1	3	2
ST Descendente	8	5	10	9
TPSV			2	

ST= seguimento ST; T= Teste de esforço (1, 2, 3 e 4); TPSV= taquicardia paroxística supraventricular.

5 DISCUSSÃO

Estudos que analisaram o fenômeno do pré-condicionamento mostraram uma grande diversidade de resultados em virtude do emprego de diferentes metodologias. Desse modo, índices como tempo total de exercício, alterações eletrocardiográficas durante o esforço, sintomas anginosos e variáveis hemodinâmicas no pico do esforço contribuíram para estabelecer resultados subjetivos^(31,32). Para homogeneizar os nossos resultados, adotamos a análise da depressão horizontal ou descendente do segmento ST quando atingisse 1,0 mm de desnível. Tal dado é considerado um valor objetivo para o diagnóstico de isquemia miocárdica⁽³³⁾. Por outro lado, o estudo incluiu apenas pacientes comprovadamente coronariopatas confirmados por estudos angiográficos e isquemia miocárdica de esforço induzido, eliminando assim, potenciais subjetividades. Além disso, analisaram-se a frequência cardíaca e o duplo produto, quando alcançado 1,0 mm de depressão do segmento ST. Esses dados são considerados índices objetivos, não

invasivos do consumo de oxigênio⁽³⁴⁾. Portanto, a frequência cardíaca e o duplo produto, quando analisados em 1,0 mm de depressão do segmento ST, são considerados índices do limiar de isquemia, enquanto que a duração do esforço decorrida até atingir essa mesma alteração é considerada como um índice de tolerância ao exercício, podendo ser influenciado por respostas periféricas^(35,36).

Dados de infradesnivelamento obtidos no pico de esforço das fases 1 (em ausência do fármaco) e 2, já em uso do medicamento, têm grande valor diagnóstico, pois foram analisados no mesmo paciente e na presença do mesmo local de alteração eletrocardiográfica entre o primeiro e o segundo teste. Tal observação tem implicações metodológicas importantes, pois, com a determinação de valor fixo de 1,0 mm de infradesnivelamento obtido pelo computador nas duas fases do estudo, evitaram-se interferências relacionadas com o traçado do ECG mensurado durante o exercício. Como a mesma medida foi realizada nos dois momentos, podemos concluir que os dois resultados são superponíveis e estão de acordo com os encontrados em outros estudos^(37,38).

Nossos resultados, usando metodologia semelhante, encontraram diferenças significativas entre os tempos para alcançar isquemia entre os grupos com e sem uso do fármaco. A análise do consumo de oxigênio e limiar de isquemia, extraída dos dados do tempo total de exercício, duplo produto e frequência cardíaca revelou diferenças significativas entre os grupos. Em uma análise mais fina do comportamento do segmento ST na fase de recuperação após exercício, observamos o surgimento do segmento ST supradesnivelado e também o infradesnivelamento em número estatisticamente significativo na fase 2, quando se fez a comparação com os dos pacientes da fase 1. Em dois pacientes que receberam o fármaco, observou-se o surgimento de taquicardia paroxística supraventricular. A presença dessas alterações na fase de recuperação é considerada um sinal de pior prognóstico de enfermidade coronariana, e seu surgimento em maior quantidade nos pacientes em uso do fármaco implica em efetiva ação deletéria do medicamento nos pacientes diabéticos portadores de doença coronariana.

Dados obtidos em nosso meio em pacientes semelhantes, porém em menor número e em uso de glibenclamida, revelaram perda do pré-condicionamento

isquêmico, atribuído ao bloqueio dos canais K⁺ ATP dependentes. Não se observaram, contudo, modificações nos dados de tolerância ao exercício em pacientes que receberam o fármaco⁽³⁹⁾. No presente estudo, a repaglinida foi suficientemente potente para modificar não só o fenômeno do aquecimento como também os índices de tolerância ao exercício. Em relação ao surgimento dos sintomas anginosos, não observamos diferenças entre os dois grupos. Desse modo, por ser subjetivo e atemporal, esse dado carece de metodologia específica para ser considerado efetivo.

5.1 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

A grande importância do estudo do pré-condicionamento no homem decorre do fato de ser, talvez, o fenômeno mais potente capaz de reduzir necrose miocárdica frente à isquemia prolongada.

Na década de 70, observamos o surgimento de evidências de que fármacos da classe das sulfoniluréias aumentavam a incidência de morte cardiovascular em diabetes

do tipo 2. O *University Group Diabetes Program* foi um dos primeiros estudos publicados⁽⁴⁰⁾ e, embora tenha causado muita controvérsia, dois outros estudos que analisaram o efeito da sulfoniluréia na fase aguda do infarto apontaram um efeito deletério da mesma. O primeiro estudo comparou pacientes diabéticos do tipo 2 que faziam uso de hipoglicemiantes orais, dieta e insulina; mostrou um aumento significativo da mortalidade nos pacientes que faziam uso de hipoglicemiantes orais⁽⁴¹⁾. O segundo estudo analisou a evolução clínica de pacientes com infarto agudo do miocárdio e que foram submetidos à angioplastia primária, mostrando um aumento do risco de mortalidade intrahospitalar para usuários de sulfoniluréias em relação a diabéticos que não faziam uso dessa medicação⁽⁴²⁾.

Tal conclusão baseou-se no conceito de que, por bloquear os canais K⁺ATP das células beta pancreáticas, as sulfoniluréias poderiam atuar também nos canais K⁺ATP do miocárdio, tornando-se, assim, um importante agente no bloqueio do pré-condicionamento isquêmico. Não existem estudos publicados com repaglinida em humanos para compararmos nossos resultados.

Por um lado, se existe a premissa do efeito benéfico dos fármacos hipoglicemiantes que agem através desse mecanismo no controle da glicemia em pacientes diabéticos do tipo 2, por outro lado, o seu uso deve ser cauteloso nos pacientes que também padecem de doença arterial coronariana. No presente estudo, demonstrou-se que, em diabéticos do tipo 2, o uso da repaglinida – um agente hipoglicemiante que age através do bloqueio dos canais K⁺ATP –, bloqueou o fenômeno do pré-condicionamento em portadores de doença arterial coronariana.

Admitindo-se que a mortalidade cardiovascular em pacientes diabéticos mostra-se aumentada, é legítimo considerar que fármacos com esse mecanismo de ação devem ser usados de maneira criteriosa ou devem ser substituídos por drogas hipoglicemiantes com mecanismos de ação diferentes. Além disso, por não existirem estudos sobre as concentrações desses fármacos nos canais K⁺ATP do miocárdio de humanos, impõe-se que medicamentos hipoglicemiantes focalizem maior proteção ao sistema cardiovascular⁽⁴³⁾.

6 CONCLUSÃO

Nos pacientes diabéticos com doença coronariana estável, a repaglinida bloqueou o fenômeno do pré-condicionamento isquêmico.

7 REFERÊNCIAS

- 1- Kloner RA, Yellow D. Does ischemic preconditioning occur in patients? *J Am Coll Cardiol*. 1994;24(4):1133-42.
- 2- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74(5):1124-36.
- 3- Van Winkle DM, Thorton JD, Downey JM. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time subsequent ischemia. *Coron Artery Dis*. 1991;2:613-9.
- 4- Lawson CS. Preconditioning in man: progress and prospects. *J Mol Cell Cardiol*. 1995;27(4):961-7.
- 5- Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr, Hermann HC, Laskey WK. Adaptation to ischemia during

- percutaneous transluminal coronary angioplasty: clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation*. 1990; 82(6):2944-51.
- 6- Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Penta de Peppo A, Chiarello L, Gioffre PA. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamid, a seletive ATP-sensitive K⁺ channel blocker. *Circulation*. 1994;90(2):700-5.
- 7- Yellon MD, Alkhulaifi AM, Parsleys WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet*. 1993;342(8866):276-7.
- 8- Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson M, Poole WK, Cannon CP, McCabe CH, Braunwald E, TIMI 4 investigators. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4: a clinical corretate to preconditioning? *Circulation*. 1995; 91(1):37-45.
- 9- Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Rusticali F. Prodromal angina limits infarct size: a role for ischemic preconditioning. *Circulation*. 1995; 91(2):291-7.

-
- 10- Kirsh GE, Codina J, Birnbaumer L, Brown AM. Coupling of ATP-sensitive K⁺ channels to A₁ receptors by G proteins in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol.* 1990;259(3Pt 2):H820-6.
 - 11- Okazaky Y, Kodama K, Sato H, Kitakase M, Mishima M, Hori M, Inoue M. Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am Coll Cardiol.* 1993; 21:1597-604.
 - 12- Stewart RA, Simmonds MB, Williams MJ. Time course of “warm-up” in stable angina. *Am J Cardiol.* 1995;76(1):70-3.
 - 13- Cohen MV, Liu GS, Downey JM. Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation.* 1991;84(1):341-9.
 - 14- Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res.* 1992;70(2):223-33.

-
- 15- Beneryce A, Locke-Winter C, Rogers KB, Mitchel MB, Brew EC, Caim CB, Bensard DD, Harken AH. Preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion by an A1- adrenergic mechanism. *Circ Res.* 1993;73(4):656-70.
 - 16- Wolfe CL, Sievers RE, Visseren FLJ, Donnelly TS. Loss of myocardial protection after preconditioning correlates with the time course of glycogen recovery within the preconditioned segment. *Circulation.* 1993;87(3):881-92.
 - 17- Liu GS, Thornton J, Van Winkle D, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 receptors in rabbit heart. *Circulation.* 1991;84(1):350-6.
 - 18- Soares PR, Albuquerque CP, Chacko VP, Gerstenblith G, Weiss RG. Role of preischemic glycogen depletion in the improvement of postischemic metabolic and contractile recovery of ischemia-preconditioned rat hearts. *Circulation.* 1997;96(3):975-83.

-
- 19- Noma A. ATP-Regulated K channels in cardiac muscle. *Nature*. 1983;305(5930):147-8.
 - 20- Ashcroft FM, Gribble FM. ATP-sensitive K⁺ channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia*. 1999;42(8):903-19.
 - 21- Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, Kuono Y, Umemura T, Nakamura S, Sato H. Diabetes mellitus prevents preconditioning in patients with first acute anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(4):1007-11.
 - 22- Intensive blood-glucose control with sulphonilureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complication in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998;352(131):837-53.
 - 23- Quast U, Stephan D, Bierger S, Russ U. The impact of ATP-sensitive channel subtype selectivity of insulin secretagogues for the coronary vasculature and myocardium. *Diabetes*. 2004;53(suppl 3):156-64.

-
- 24- Damsbo P, Marbury TC, Hartop V. Flexibe prandial glucose regulation with repaglinide in patientes type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;45:31-9.
- 25- Van Gaal LF, Van Acker KL, Damsbo P. Metabolic effects of repaglinide, a new oral hypoglicaemic agent in therapy-naive type 2 diabetics [abstract]. *Diabetologia* 1995;38(1):A43.
- 26- Dabrowski M, Wahl P, Holmes WE, Ashcroft FM. Effect of repaglinide on cloned beta cell, cardiac and smooth muscle types of ATP-sensitive potassio channels. *Diabetologia*. 2001;(44):747-56.
- 27- Franco G. Tabela de composição química de alimentos. 7^a ed, Rio de Janeiro: Atheneu;1986.
- 28- Pinheiro ASB, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 2^a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1994.

-
- 29- II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre teste ergométrico. *Arq Bras Cardiol.* 2002;78(Supl 2):1-18.
- 30- Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics.* 4a ed. New York: Duxbury Press; 1994. p.682.
- 31- MacAlpin RN, Weidner WA, Kattus AA Jr, Hanafee WN. Eletrocardiographic changes during selective coronary cineangiography. *Circulation.* 1996;34(4):627-37.
- 32- Jaffe MD, Quin NK. Warm-up phenomenon in angina pectoris. *Lancet.* 1980;2(8021):934-6.
- 33- Gibbons RJ, Balady GJ, Beasley JW, Bricker JT, Duvernoy WF, Froelicher VF, Mark DB, Marwick TH, McCallister BD, Thompson PD Jr, Wintera WL, Yanowitz FG, Ritchie JL, Cheitlin MG, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A Jr, Lewis RP, O'Rourke RA, Ryan TJ. ACC/AHA Guidelines for Exercise Testing. A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing). *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(1):260-311.

-
- 34- Gobel FL, Norstrom LA, Nelson RR, Jorgensen CR, Wang Y. The rate-pressure product as an index of myocardial oxygen consumption during exercise in patients with angina pectoris. *Circulation*. 1978;57(3):549-56.
- 35- Waters DD, McCans JL, Crean PA. Serial exercise testing in patients with effort angina: variable tolerance, fixed threshold. *J Am Coll Cardiol*. 1985;6(5):1011-5.
- 36- Casaburi R. Principles of exercise training. *Chest*. 1992;101(5 Suppl):263S-267S.
- 37- Okazaki Y, Kodama K, Sato H, Kitakaze M, Hirayama A, Mishima M, Hori M, Inoue M. Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am Coll Cardiol*. 1993;21(7):1597-604.
- 38- Tomai F, Danesi A, Ghini AS, Crea F, Perino M, Gaspardone A, Ruggeri G, Chiarello L, Giofre PA. Effects of K(ATP) channel blockade by glibenclamide on the warm-up phenomenon. *Eur Heart J*. 1999;20(3):196-202.

-
- 39- Ferreira BM, Moffa PJ, Falcão A, Uchida A, Camargo P, Pereira P, Soares PR, Hueb W, Ramires JA. The effects of glibenclamide a K(ATP) channel blocker, on the warm-up phenomenon. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2005;10(3): 356-62.
- 40- University Group Diabetes Program. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complication in patients with adult onset diabetes mellitus: Mortality results. *Diabetes.* 1970;19(Suppl.2): 785-830.
- 41- Rytter L, Troelsen S, Beck-Nielsen H. Prevalence and mortality of acute myocardial infarction in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 1985;(8):203-34.
- 42- Garrat KN, Brady PA, Hassinger NL, Grill DE, Terzic A, Holmes DR. Sulfonylureas drugs increase early mortality in patients with diabetes mellitus after direct angioplasty for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33(1): 119-24.

-
- 43- Meier JJ, Gallwitz B, Schmidt WE, Mügge A, Nauck MA. Is impairment of ischaemic preconditioning by sulfonylurea drugs clinically important? *Heart*. 2004;90(1):9-12.