



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARIA MARTA DIAS LOPES

***IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS CÉLULAS
ENDOTELIAIS PROGENITORAS E VESÍCULAS
EXTRACELULARES - UMA REVISÃO DA LITERATURA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA, CARDIOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DOUTOR ALEXANDRE REBELO-MARQUES

PROFESSOR DOUTOR FREDERICO PEREIRA

FEVEREIRO / 2021

**IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS
E VESICULAS EXTRACELULARES - UMA REVISÃO DA LITERATURA**

-ARTIGO DE REVISÃO-

Maria Marta Dias Lopes, MD ^{1,2}

Frederico Guilherme Sousa Costa Pereira, PhD ^{1,3}

Alexandre Rebelo-Marques, MD, MSc ^{1,4}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

² mariamdlopes@gmail.com , Rua Joaquim Paço D'Arcos 2F 9ºD, 1500-366 Lisboa

³ fredcp@ci.uc.pt , Azinhaga de Santa Comba, Celas, 3000-548, Coimbra

⁴ alexrmarques@gmail.com, Azinhaga de Santa Comba, Celas, 3000-548, Coimbra

Índice

<u>Lista de Abreviaturas</u>	5
<u>Resumo</u>	6
<u>Abstract</u>	6
<u>Introdução</u>	7
<u>Metodologia</u>	10
<u>Resultados</u>	
Doença Arterial Coronária	11
Doença Arterial Periférica	15
Insuficiência Cardíaca Crônica	19
<u>Discussão</u>	
Doença Arterial Coronário	23
Doença Arterial Periférica	25
Insuficiência Cardíaca Crônica	26
Importância na Prática Clínica	27
Desafios Futuros	27
Limitações	28
<u>Conclusão</u>	29
<u>Agradecimentos</u>	30
<u>Referências</u>	31

LISTA DE ABREVIATURAS

CI – Claudicação Intermitente

DAC – Doença Arterial Coronária

DAP – Doença Arterial Periférica

DCV – Doenças Cardiovasculares

CEPs- Células Endoteliais Progenitoras

EAM – Enfarte Agudo do Miocárdio

HIIT - *High Intensity Interval Train*

ICC – Insuficiência Cardíaca Crónica

MET – equivalente metabólico

MMP – metalopeptidase matriz

MMP9 – metalopeptidase 9 da matriz

MO – Medula Óssea

NO – Óxido nítrico

N.R. – Não Referido

nSET - Non Supervised Exercise Training

NT - Nitrotirosina

PE – Prova de Esforço

RNA – Ácido ribonucleico

SET - Supervised Exercise Training ,

SDF-1 – fator 1 derivado de células estromais

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VEGFR2 - Recetores 2 do fator de crescimento endotelial vascular

VEs– Vesículas Extracelulares

RESUMO

O papel do exercício físico na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares é inquestionável. Acredita-se que a sua prática leva a uma maior mobilização e recrutamento de células endoteliais progenitoras e vesículas extracelulares, que condicionam uma melhor capacidade de resposta na ocorrência de dano endotelial, através de processos de neovascularização e angiogénese, ajudando na reparação e na manutenção da integridade endotelial. Esta revisão narrativa teve como estratégia uma pesquisa bibliográfica de base alargada, de maneira a procurar artigos que evidenciassem uma relação entre a prática de exercício físico e aumento dos níveis circulantes destas substâncias em doentes com patologia cardiovascular. Concluiu-se que existe, de facto, uma elevação dos valores destas substâncias no sangue periférico decorrente da prática de atividade física, melhorando o *outcome* dos doentes cardiovasculares.

PALAVRAS-CHAVE: Células endoteliais progenitoras, vesículas extracelulares, exercício, atividade física.

ABSTRACT

The role of physical exercise in the prevention and treatment of cardiovascular diseases is unquestionable. It is believed that its practice leads to greater mobilization and recruitment of progenitor endothelial cells and extracellular vesicles, which condition a better response capacity in the occurrence of endothelial damage, through neovascularization and angiogenesis processes, helping in the recovery and maintenance of endothelial integrity. This narrative review had a broad-based bibliographic research strategy, in order to search for articles that evidenced a relationship between the practice of physical exercise and increased circulating levels of these substances in patients with cardiovascular pathology. It was concluded that there is, in fact, an increase in the values of these substances in peripheral blood due to the practice of physical activity, improving the outcome of cardiovascular patients.

KEYWORDS *Endothelial progenitor cells; extracellular vesicles; physical activity; exercise*

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte a nível mundial. O objetivo atual é diminuir a elevada mortalidade atribuída às doenças cardiovasculares (DCV), por isso têm sido desenvolvidas várias estratégias clínicas, focadas na manutenção e integridade endoteliais, como alvo terapêutico e indicador de prognóstico (1). A integridade endotelial celular é fulcral na manutenção da função dos vasos e na preservação da homeostase vascular. A disfunção endotelial funciona como um “pré” evento na doença vascular que, frequentemente, dá origem a complicações cardiovasculares (2).

O exercício físico é fundamental na prevenção e no tratamento de DCV. A evidência científica sobre as vantagens exercício físico é cada vez mais sólida e, por isso, este é amplamente recomendado por médicos e cientistas como uma estratégia chave para prevenir e tratar DCV e doenças metabólicas (3). A atividade física está associada a mudanças imediatas em parâmetros fisiológicos, como frequência cardíaca, pressão arterial, respiração, níveis de lactato, níveis de células circulantes e provoca uma resposta aguda ao stress. Ajuda no controlo da tensão arterial, melhora o perfil lipídico sanguíneo, como é o caso da dislipidemia, e diminui a resistência à ação da insulina (3). Além disso, a sua prática regular inicia a uma adaptação, a longo prazo, de processos de metabolismo muscular, do sistema cardiovascular, bem como efeitos modulatórios imunológicos que são considerados benéficos para o organismo, nos vários grupos etários (4).

É conhecido o papel da idade como um fator de risco para o desenvolvimento de DCV (5). A senescência vascular, associada à idade, deriva de uma acumulação de danos devido ao stress oxidativo e ao encurtamento dos telómeros que provocam uma diminuição no potencial de divisão celular. Desta maneira, e devido aos fortes efeitos destes fatores, a regeneração celular vai sendo gradualmente afetada (2). No sistema cardiovascular, esta senescência celular é caracterizada pelo aumento dos níveis de endotelina e de angiotensina, diminuição dos níveis de células endoteliais progenitoras (CEPs), assim como uma angiogénese ineficaz e mecanismo de reparação das paredes dos vasos deficientes (6–8).

As CEPs constituem um grupo celular pouco comum, de células não hematopoiéticas, que expressam marcadores CD34 ou recetores 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2), e são derivadas da medula óssea (MO) em resposta à ocorrência de dano endotelial. Estas células foram isoladas e caracterizadas, pela primeira vez, em 1997 (9). As CEPs são identificadas por características de

citometria de fluxo, ou seja, expressão de CD34, CD133 ou VEGFR2 (10). Como estas células podem ter origem a partir de vários precursores, incluindo o hemangioblasto, precursores mesenquimais não hematopoiéticos, como a MO (11), monócitos e também células-tronco residentes no tecido, a sua caracterização precisa torna-se difícil (12,13). A maioria das CEPs residem na MO, em associação com células-tronco hematopoiéticas e células do estroma da MO que fornecem um microambiente para a hematopoiese, contribuindo apenas 0,02% para o número de células mononucleares circulantes no sangue periférico (10). São recrutadas para a circulação sistêmica e alojam-se em locais de isquemia, hipoxia, lesão ou formação de tumor (14), contribuindo para a reparação vascular e manutenção da integridade endotelial (15). Vários são os estímulos que contribuem para o seu recrutamento, como por exemplo as citocinas, fazendo parte desta classe os fatores de crescimento pró-angiogênicos como a angiopoietina-1, o fator de crescimento de fibroblastos, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator 1 derivado de células estromais (SDF-1); exercício físico; fármacos como as estatinas; entre outros (10,15). Foi reportado o potencial regenerativo e proliferativo que as CEPs apresentam, pois funcionam como um “software” que promove a neovascularização, através da libertação de citocinas pró-angiogênicas (16).

O número e a função das CEPs estão inversamente relacionados com a idade e fatores de risco cardiovascular, entre eles o tabagismo, diabetes, hipertensão arterial ou alterações no metabolismo dos lípidos, como a hipercolesterolemia ou hipertrigliceridemia (10). O doseamento destas células no sangue periférico pode ser considerado um biomarcador preditivo para risco cardiovascular e função vascular (17), pois indivíduos com um número reduzido de CEPs na corrente sanguínea possuem maior risco para desenvolver disfunção endotelial, aumentando a probabilidade de ocorrência de eventos cardiovasculares. Por outro lado, foi identificada uma associação significativa entre o aumento dos níveis destas células e a diminuição do risco de eventos e hospitalização em doentes com DVC (18).

Várias têm sido as estratégias investigadas para serem utilizadas na prevenção e no tratamento de indivíduos com doenças cardiovasculares, como é o caso das vesículas extracelulares (VEs). As VEs são um grupo heterogêneo de vesículas encapsuladas por uma membrana lipídica, que são excretadas pelas células para o espaço extracelular. Estas vesículas assumem um papel importante na comunicação intercelular, pois conseguem interagir com células-alvo a longas distâncias e mediar a transferência de moléculas biologicamente ativas, incluindo proteínas, lipoproteínas e RNA mensageiro. As VEs são classificadas de acordo com o seu modo de libertação,

existem os corpos apoptóticos (500nm – 3µm), as microvesículas, também chamadas de micropartículas, (100nm – 1µm) e os exosomas (50–100 nm) (19,20). Vários foram os estudos que reportaram o efeito protetor das VEs exógenas, derivadas de células tronco, contra a apoptose de cardiomiócitos em tecido miocárdico que sofrera lesão isquêmica (21). O sangue periférico contém uma quantidade substancial de VEs circulantes e a sua concentração, composição e perfil refletem a condição fisiológica e fisiopatológica do corpo. As VEs são reconhecidas com potenciais biomarcadores em diagnósticos, como acontece nas DCV (4,22).

O papel do exercício físico na prevenção das doenças cardiovasculares é unanimemente reconhecido. Vários estudos têm vindo a demonstrar uma estreita relação entre o exercício físico e o aumento dos níveis circulantes de CEPs e VEs. Acredita-se que o exercício promove uma maior mobilização e disponibilidade destas células por parte da medula óssea, aumentando os seus níveis no sangue periférico, contribuindo assim para uma maior capacidade de reposta aquando de dano endotelial, através da reparação vascular por processos de neovascularização e de angiogénese (10). A atividade física melhora a função endotelial tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes com doenças cardiovasculares (DCV) (23). Apresenta um efeito positivo sobre os níveis de CEPs circulantes, pois funciona como indutor na sua mobilização, a partir da MO, e promove a sua ação em locais de isquemia (24–26). Além do mais, o exercício é capaz de desencadear a libertação de uma variedade de "exerkines" na circulação que pode ser transportadas pelas VEs (21). As VEs também podem ser transportadas e libertadas pelas CEPs no contexto do exercício físico, contribuindo para a angiogénese (27) .

Este projeto visa fazer uma revisão da literatura sobre os resultados encontrados que fomentam esta íntima relação que existe entre o exercício físico e o impacto que este tem nas células endoteliais progenitoras e nas vesículas extracelulares em indivíduos com patologia cardiovascular.

MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho, os métodos utilizados foram de acordo com o modelo usado para as revisões narrativas, tendo sido realizada uma pesquisa bibliográfica alargada nas seguintes bases de dados: Embase, Web Of Science e PubMed. A pesquisa foi feita de maneira a procurar artigos que relacionassem o exercício físico com o aumento de CEPs e VEs em doentes com patologia cardiovascular. A pesquisa incluiu artigos até 30 de outubro de 2020 em língua inglesa e portuguesa. A estratégia de pesquisa utilizou operadores booleanos AND (E) e OR (OU) e os termos: *endothelial progenitor cell* (célula endotelial progenitora), *extracellular vesicles* (vesícula extracelular), *circulating angiogenic cells* (células angiogénicas circulantes), *colony-forming units* (unidades formadoras de colónias), *exercise* (exercício) e *physical activity* (atividade física). A chave utilizada para a pesquisa foi a seguinte: "Endothelial progenitor cell" OR "Extracellular vesicles" OR "circulating angiogenic cells" OR "colony-forming units" AND exercise OR "physical activity".

A pesquisa resultou em 586 artigos e foram selecionados os artigos considerados com base no título e resumo, tendo sido incluídos 52 artigos. Destes 52 artigos potencialmente relevantes, foram excluídos 21 por serem *Abstracts* de congressos e 16 por não cumprirem os critérios de inclusão para o estudo, que foram os seguintes: população em estudo com DCV, humana e com idade superior a 18 anos, submetidos a atividade física ou a um programa de reabilitação cardíaca, descrição de metodologia e resultados.

A lista de referências bibliográficas dos estudos citados foi analisada de modo a identificar e acrescentar estudos adicionais relevantes.

RESULTADOS

1. Doença Arterial Coronária

A Doença Arterial Coronária (DAC) é uma das principais causas de mortalidade e de incapacidade a nível mundial, assim como lesões de isquemia, como é o caso da isquemia miocárdica (28). A DAC pode ser diagnosticada prematuramente, isto acontece quando é detetada antes dos 65 anos nas mulheres e antes dos 55 ou 60 anos nos homens. (28) A sua incidência na população geral começa a aumentar depois do 40-45 anos de idade (30) . Mais de 80% dos casos de enfarte do agudo do miocárdio (EAM) acontecem após os 50 anos (28).

A aterosclerose é a principal causa de DAC, sendo esta uma doença inflamatória caracterizada pela acumulação de células de músculo liso, infiltração de células leucocitárias e a formação de uma camada “neoíntima” (11). A integridade e a função endoteliais prejudicadas funcionam como marcadores da aterosclerose, pois estas estão intimamente relacionadas com processos inflamatórios (31). A progressão ou o não controlo da aterosclerose, como por exemplo a rotura da placa aterosclerótica, podem conduzir a eventos cardiovasculares, como é o caso do EAM (32). A isquémia que ocorre ao nível do tecido miocárdico funciona como um potente estímulo para a remodelação e crescimento vascular, contribuindo assim para a neoangiogénese e a formação de novos vasos, através do aumento das citocinas que circulam no sangue, como é o caso do VEGF, das CEPs e das VEs (31). Os doentes com DAC apresentam níveis basais de CEPs e a sua função mais diminuídos comparativamente à população saudável (33).

A neovascularização miocárdica ocorre devido à diminuição da apoptose dos cardiomiócitos na zona periférica do enfarte, à redução da deposição de colagénio e também à melhoria da função ventricular (34). No EAM, os níveis de mediadores inflamatórios solúveis estão significativamente aumentados. Entre esses marcadores inflamatórios existem alguns fatores que atuam como um isco para as CEPs. O tecido isquémico liberta estes fatores capazes de “atrair” as CEPs, criando assim um gradiente diretamente para o sítio da lesão (35–37).

Vários fatores, incluindo múltiplos polipeptídeos, ácidos nucleicos e substâncias semelhantes são induzidas e libertadas durante a prática de atividade física, exercendo um efeito protetor sob diversas doenças (36). O efeito protetor do exercício na isquemia do miocárdio está associado à redução da inflamação miocárdica, minimização do stress oxidativo, diminuição da apoptose dos cardiomiócitos e promoção da angiogénese (21). Em doentes com DAC, pode influenciar positivamente o desenvolvimento e a progressão da aterosclerose e da própria DAC. A prática de

atividade física assume um papel muito importante na revascularização miocárdica, pois ajuda na melhoria da função endotelial e pode limitar a carga do processo inflamatório nestes doentes (31). Os efeitos vasculares do exercício físico podem também incluir adaptações estruturais e funcionais. Vários são os mecanismos que explicam esses efeitos, um deles é caracterizado pela diminuição da produção de citocinas pró inflamatórias e pelo aumento do recrutamento de CEPs na MO. Isto acontece porque há uma maior transcrição de genes que, por sua vez, induzem a expressão de fatores de crescimento, como o VEGF ou a eritropoietina, que são os reguladores na mobilização de CEPs (2,38).

Apesar dos grandes avanços que têm sido alcançados nos estudos das DAC, mais concretamente no EAM, existe uma falha nas intervenções eficazes no homem. Muitos têm sido os estudos feitos de modo a encontrar novos alvos terapêuticos e estratégias mais eficazes no combate a esta patologia (21). Uma das terapêuticas que tem vindo a ser estudado é a terapêuticas com VEs. A atividade física pode provocara libertação de VEs na circulação que são responsáveis pela mediação de alguns péptidos cardíacos que exercem funções biológicas sob estados fisiopatológicos, como o caso da isquemia cardíaca (21). O exercício físico aumenta também os níveis de *exerkines* que são transportadas pelas VEs que conferem benefícios sistémicos a órgãos distais, incluindo o coração, tendo um efeito protetor e auxiliador no tratamento de doenças cardiovasculares, como a DAC (39).

Vários foram os estudos realizados de modo a encontrar uma relação entre o exercício físico, tanto agudo, sub-crónico como crónico, e o aumento de CEPs e VEs na circulação sanguínea (Tabela 1). Existe evidência de que a atividade física funciona como promotor para a subida destas substâncias que circulam no organismo.

Tabela 1 - Resultados do exercício físico na CEPs e nas VEs em pacientes com DAC

Referência Artigo	Grupo experimental	Controlo	Características do grupo experimental	Características do exercício	Momentos de avaliação	Resultados nas CEPs ou VEs da amostra
Adams et al. 2004 (34)	16 indivíduos, Média de idades: 65,0 ± 1,4 anos 12 indivíduos, Média de idades: 60,0 ± 2,1 anos	11 indivíduos Média de idades: 59,0 ± 4,4 Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAC isquêmica e não isquêmica submetidos a ergometria em bicicleta <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis submetidos a ergometria.	Ergometria em bicicleta <u>Tipo de exercício:</u> aeróbio <u>Frequência:</u> início com 70 rpm, fim <60 rpm <u>Intensidade:</u> máxima <u>Duração (s):</u> experimental - 400 ± 14; controlo - 530 ± 31	Valores de CEPs medidos antes e 2, 4, 6, e 8 h após o exercício, e a todas as 24h até 6 dias após o exercício.	↑ CEPs em ambos os grupos relativamente aos níveis basais, com maior aumento no grupo com DAC isquêmica, 24h a 48h após o exercício.
Rummen J.L. et al. 2012 (33)	60 indivíduos masculinos Média de idades: 61 ± 1 Anos	25 indivíduos masculinos Média de idades: 55 ± 1 Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAC, sob programa de reabilitação cardíaca após revascularização coronária, submetidos a ergometria. <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis submetidos a ergometria	Ergometria <u>Tipo de exercício:</u> aeróbio <u>Frequência:</u> início com 70 rpm, fim <60 rpm <u>Intensidade:</u> máxima <u>Duração (s):</u> experimental - 400 ± 14; controlo - 530 ± 31	Valores de CEPs foram medidos imediatamente antes e após o exercício	↑ CEPs em ambos os grupos, relativamente aos níveis basais. Aumento mais significativo no grupo de controlo.
Krüger K. et al. 2014 (40)	34 indivíduos masculinos Média de idades: 68,3 ± 7,8 Anos	N.R.	Indivíduos com DAC com história de enfarte agudo do miocárdio nos últimos 2-5 anos e que participaram num programa ambulatorio de reabilitação cardíaca com 1 a 2 sessões semanais de 60 min.	Não especificam. Referem atividades instrumentais da vida diária, atividades de lazer e atividades desportivas. Os valores dos gastos energéticos foram dados em MET.	Uma única medição de CEPs.	Verificou-se que pacientes com maior atividade física, apresentavam maior ↑ CEPs
Kaźmierski M. et al. 2015 (28)	60 indivíduos (72%masulino) Média de idades: 43 (35-49) Anos	33 indivíduos (82%masculino) Média de idades: 42 (34-49) Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAC com 70% estenose em pelo menos 1 dos 3 maiores vasos coronários, submetidos a PE. <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis, submetidos a uma PE.	PE em passadeira, utilizando o protocolo de Bruce. <u>Tipo de exercício:</u> resistência. <u>Intensidade:</u> N.R <u>Duração:</u> 21 min. <u>Controlo:</u> tempo e carga de trabalho ajustados aos parâmetros do grupo experimental.	Foram medidos os valores de CEPs imediatamente antes do exercício (CEP 0), 15 min (CEP 15) e 60 min (CEP 60) após o teste de exercício.	↑ CEPs em ambos os grupos em relação aos níveis basais. Aumento mais significativo no grupo de controlo.

Gagliardi J. et al. 2016 (41)	10 indivíduos (70%masculino) Média de idades: 59,5 ± 2,8 Anos	11 indivíduos (90,9%masculino) Média de idades: 65,4 ± 1,6 Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAC estável submetidos a um programa de reabilitação com treinos 3x/semana durante 12 semanas. <u>Controlo:</u> Indivíduos com DAC estável, sedentários.	Treinos 3x/semana: 2x centro de reabilitação, 1x em casa. <u>Tipo de exercício:</u> aeróbio <u>Intensidade:</u> N.R <u>Duração:</u> 12 semanas	Os valores de CEPs foram medidos: 30 min após o exercício e, posteriormente, 1 mês e 3 meses após.	↓ CEPs após 1 mês e 3 meses de follow up no grupo experimental.
Bei Y. et al. 2017 (21)	16 indivíduos (81%masculino) Média de idades: 54 ± 11 Anos	N.R.	<u>Experimental:</u> 13 indivíduos com 1 ou mais fatores de risco cardiometabólicos.	Teste de Esforço <u>Tipo de exercício:</u> resistência <u>Intensidade:</u> N.R. <u>Duração:</u> N.R. <u>Frequência:</u> N.R.	Valores de VEs medidos em repouso, no pico de exercício e 15 min após exercício.	↑ VEs no grupo experimental em relação aos níveis basais, durante o pico de exercício.
Kränkel N. et al. 2020 (31)	25 indivíduos Média de idades: N.R.	25 indivíduos Média de idades: N.R. Idade e sexo correspondentes ao grupo experimental.	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAC submetidos a treino de alta intensidade intervalado por 4 semanas. <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis, treino de alta intensidade intervalado 4 semanas	Treino de alta intensidade intervalado <u>Tipo de exercício:</u> anaeróbio <u>Intensidade:</u> Alta <u>Duração:</u> 4 semanas	Foram medidos os valores de VEs após 4 semanas	↑ das VEs de tamanho médio , em ambos os grupos, com aumento mais significativo no grupo experimental. Verificou-se também uma melhoria na capacidade de re- endotelização das VEs no grupo experimental.

CEPs – Células Endoteliais Progenitoras, DAC – Doença Arterial Coronária, DCC – Doença Coronária Crónica, MET- Equivalentes Metabólicos, N.R. – Não Referido, PE – Prova de Esforço, RPM – Rotações por Minuto, VEs – Vesículas Extracelulares

2. Doença Arterial Periférica

A Doença Arterial Periférica (DAP) afeta cerca de 1/5 da população com idade \geq a 65 anos. A DAP é uma manifestação comum da aterosclerose avançada, principalmente nos vasos coronários e cerebrais (42). Os doentes com DAP têm maior probabilidade de ocorrência de um evento cardiovascular que é refletida por um risco de mortalidade a 5 anos superior a 33% (43). Cerca de 15-40% destes doentes têm como clínica habitual a claudicação intermitente (CI) que é definida por dor isquémica muscular nos membros inferiores, causada pela marcha, e que alivia com o repouso (44). A CI pode limitar o as atividades da vida diária de um indivíduo. A gravidade da isquemia aguda nos membros pode ser avaliada através da classificação de Rutherford ou a classificação de Fontaine (Tabela 2).

Tabela 2 - Classificação CI (45)

Classificação de Fontaine	Classificação e Rutherford
Estágio I Assintomático	Categoria 0 Assintomático
Estágio II a) Claudicação Intermitente Limitante	Categoria 1 Claudicação Leve
	Categoria 2 Claudicação Moderada
Estágio II b) Claudicação Intermitente Incapacitante	Categoria 3 Claudicação Severa
Estágio III Dor isquémica em repouso	Categoria 4 Dor em Repouso
Estágio IV Lesões Tróficas	Categoria 5 Lesão Trófica Pequena
	Categoria 6 Necrose Extensa

A prática de exercício físico está recomendada e é um dos pilares do tratamento conservador, juntamente com terapêutica médica, em doentes com DAP, com CI na categoria 1 a 3 da classificação de Rutherford (Fontaine I-II) (42). Esta recomendação é baseada em estudos e investigações que reportam um aumento na capacidade de caminhar em indivíduos com DAP após um programa de exercícios (46,47). O exercício físico é mais eficiente se for profissionalmente supervisionado (48). Estes doentes têm um nível basal de CEPs circulantes diminuídos, comparativamente a indivíduos saudáveis, assim como também existe uma limitação da função e da capacidade migratória destas células nestes indivíduos (44).

A prática regular de exercício melhora a extração do oxigénio do sangue, a atividade enzimática e hemorreologia. A combinação destes mecanismos melhora o metabolismo muscular dos membros inferiores (47). Aumenta o fluxo sanguíneo e a tensão de cisalhamento endotelial, dando oportunidade para a expressão da óxido nítrico (NO) sintetase endotelial. A NO sintetase ativa a metalopeptidase 9 da matriz (MMP 9) que facilita a mobilização de CEPs na MO (42).

A atividade física tem efeitos positivos sob a inflamação e, conseqüentemente, sob a aterosclerose. Parte dos mecanismos envolvidos estão relacionados com a mobilização de CEPs (44). Alguns estudos foram realizados que demonstraram o um aumento significativo de CEPs em doentes com DAP, desencadeado pela prática de exercício físico, tanto exercício prolongado como um único episódio de exercício (Tabela 3).

A isquemia muscular induzida pelo exercício, uma isquemia intensiva e prolongada, atua como um estímulo angiogénico, pois potencializa a libertação de VEGF. A isquemia no tecido muscular regula a metaloproteinase matriz (MMP) e a MMP 9, que aumentam os níveis de citocinas extracelulares, como o VEGF. Por outro lado, o VEGF estimula a secreção de MMP 9 (49). Durante a isquemia, o VEGF e o SDF-1 contribuem para a mobilização de CEPs. Em suma, a isquemia funciona como um *trigger* para a mobilização de CEPs (42).

Tabela 3 - Resultados do exercício físico na CEPs em pacientes com DAP

Referência Artigo	Grupo experimental	Controlo	Características do grupo experimental	Características do exercício	Momentos de avaliação	Resultados nas CEPs da amostra
Sandri M. et al. 2011 (50)	23 indivíduos (96%masculino) Média de idades: 61,4 ± 2,1 Anos	17 indivíduos (94%masulino) Média de idades: 31,3 ± 3,4 Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAP oclusiva estável com estenose das artérias ilíacas ou femorais submetidos a um teste de esforço máximo em passadeira. <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis submetidos a um teste de esforço máximo em passadeira.	Teste de esforço máximo em passadeira. <u>Tipo de exercício:</u> resistência. Inclinação a 12% e velocidade de 3,5km/h. <u>Duração:</u> teste parava quando indivíduos não suportavam a dor isquémica. <u>Frequência:</u> N.R <u>Intensidade:</u> até atingir claudicação	Valores de CEPs medidos antes do teste, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, e 72h após o teste.	↑ CEPs em ambos os grupos, com maior aumento no grupo de controlo. Máximo atingido às 24h após exercício. ↓ Capacidade migratória no grupo experimental, comparativamente ao grupo de controlo.
Schlager O. et al. 2011 (42)	20 indivíduos (65%masculino) Média de idades: 69 ± 8 Anos	20 indivíduos (55%masulino) Média de idades: 70 ± 11 Anos	<u>Experimental:</u> Indivíduos com DAP sintomática e com CI (Categorias I-III da escala de Rutherford), submetidos a um treino de exercício supervisionado (2x semana) por 6 meses. <u>Controlo:</u> Indivíduos com DAP sintomática e com CI(Categorias I-III da escala de Rutherford), sedentários.	Treino de exercício supervisionado, de marcha intermitente, durante 6 meses. <u>Tipo de exercício:</u> resistência <u>Duração inicial:</u> 35 min. (aumentando 5 min por sessão até aos 50min). <u>Frequência:</u> 2x semana. <u>Intensidade:</u> N.R.	Follow up de 6 meses. Foram medidos os valores de CEP em jejum, 3 dias após a última sessão de treino.	↑ CEPs no grupo experimental comparado com o grupo de controlo. ↑ Capacidade migratória no grupo experimental, comparativamente ao grupo de controlo, aos 3 e 6 meses de <i>follow up</i>

<p>Dopheide J. et al. 2016 (44)</p>	<p><i>SET</i>: 20 indivíduos (75%<i>masc</i>), média de idades: 73,0 anos</p> <p><i>nSET</i>: 20 indivíduos (75%<i>masc</i>), média de idades: 66,0 anos</p>	<p>20 indivíduos (60%<i>masulino</i>)</p> <p>Média de idades: 68,0 Anos</p>	<p><u><i>SET</i></u>: Indivíduos com DAP e com claudicação intermitente (Categorias 1-3) da escala de Rutherford, submetidos a um programa de exercício supervisionado.</p> <p><u><i>nSET</i></u>: Características iguais ao grupo <i>SET</i>, programa de exercício não supervisionado.</p> <p><u>Controlo</u>: Indivíduos saudáveis submetidos a programa de exercício.</p>	<p>Exercício de resistência em passadeira; inclinação a 12% e velocidade de 3,2km/h; 30-60 min duração; 3-5x semana; + exercício domicílio; intensidade até atingir a claudicação.</p>	<p><i>Follow up</i>: 7,65 ± 1,62 meses</p>	<p>↑ CEPs em ambos os grupos (<i>SET</i> e <i>nSET</i>), comparativamente ao grupo de controlo. Aumento mais significativo no grupo <i>SET</i>.</p>
--	--	---	---	--	--	--

CEPs – Células Endoteliais Progenitoras, CI – Claudicação Intermitente, DAP – Doença Arterial Periférica, *masc* – masculino, N.R. – Não Referido, *nSET* - *Non Supervised Exercise Training*, *SET* - *Supervised Exercise Training*

3. Insuficiência Cardíaca Crônica

A Insuficiência Cardíaca Crônica (ICC) é uma doença que ocorre na população com idade mais avançada. A sua prevalência aumenta 1,5% nos homens e 0,7% nas mulheres, com idades compreendidas entre os 40 e os 59 anos, e 7,8% nos homens e 4,5% nas mulheres entre os 60 e os 79 anos (51). A fisiopatologia da ICC é extremamente complexa, pois envolve múltiplas alterações anatómicas, funcionais, estruturais e histológicas, tanto a nível cardíaco como a nível periférico (52). A ICC é caracterizada pela redução do “*output*” cardíaco e pelo fluxo de sangue periférico que se encontra deficitário. Estes doentes apresentam um nível basal de CEPs diminuído comparativamente à população saudável, pois com o avançar da idade há a redução no número de CEPs e disfunção destas mesmas células, sendo em parte responsável pelo aparecimento de DCV (51).

A ativação dos sistemas inflamatório e imunitário em associação com sintomas de ICC aumentam o stress oxidativo. Os doentes com ICC apresentam níveis de óxido nítrico (NO) e de nitrotirosina (NT) elevados. Este aumento relaciona-se, conseqüentemente, com um aumento na gravidade da doença. O stress oxidativo está ligado e em profunda relação com a disfunção endotelial e a progressiva deterioração da performance cardíaca em doentes com ICC (52). As citocinas inflamatórias podem ser induzidas pelas espécies reativas do oxigênio (ROS), assim como as citocinas podem promover a produção de ROS, tornando-se num ciclo. As ROS derivam da NADPH oxidase e têm um papel importante na sinalização do VEGF e da angiogénese (53,54).

O exercício regular melhora substancialmente a disfunção endotelial e a capacidade de praticar exercício na ICC. Uma prática frequente regula os níveis de NADPH oxidase e aumenta os níveis de enzimas antioxidantes, assim como aumenta os níveis de células progenitoras importantes para a manutenção da integridade endotelial, como é o caso das CEPs (42). A atividade física é benéfica para os doentes com ICC pois restaura a reatividade vascular, pois reduz o stress oxidativo.

Os doentes com ICC apresentam uma limitação na prática de exercício físico. Esta intolerância é devida a alterações hemodinâmicas, que ocorrem a nível central, conjugadas com uma função cardíaca prejudicada e uma vasodilatação anormal, principalmente a nível periférico (51). Existem também alterações intrínsecas no musculo esquelético, como a redução da densidade capilar ou o aumento da proteólise muscular, que contribuem para esta limitação. As CEPs contribuem para a manutenção da integridade endotelial e para a reparação de endotélio que esteja afetado (55). A

redução do número de CEPs em doentes com ICC pode estar também associada a uma diminuição da capacidade funcional destas, devido à ativação de inflamação generalizada (51).

O exercício físico tem a capacidade para aumentar os números e melhorar a função de CEPs circulantes em pacientes com ICC. Vários foram os estudos feitos para mostrar os efeitos do exercício e a sua influência em doentes com ICC (Tabela 4).

Os valores de CEPs também podem ser aumentados devido à ação do VEGF e do SDF-1. O SDF-1 desempenha um papel crítico no complexo processo que é o recrutamento de CEPs na formação de vasos e na sua reparação. Em tecidos isquémicos, a descida da tensão do oxigénio aumenta os níveis do fator 1 indutor de hipoxia (HIF-1), ativando assim a transcrição de SDF-1 (52).

Tabela 4 - Resultados do exercício físico na CEPs em pacientes com ICC

Referência Artigo	Grupo experimental	Controlo	Características do grupo experimental	Características do exercício	Momentos de avaliação	Resultados nas CEPs da amostra
<p>Van Craenenbroeck E. et al. 2010 (56)</p>	<p>21 indivíduos (85% masculinos)</p> <p>Média de idades: 61,3 ± 2,2 Anos</p>	<p>17 indivíduos (71% masc) Média de idades: 63,4 ± 3 Anos</p> <p>10 indivíduos (80% masc), Média de idades: 56,5 ± 2 Anos</p>	<p><u>Experimental:</u> Indivíduos com ICC sob programada de reabilitação cardíaca.</p> <p><u>Controlo:</u> -17 Indivíduos com ICC sedentários. -10 Indivíduos saudáveis sedentários</p>	<p>PE em bicicleta ergométrica</p> <p><u>Tipo de exercício:</u> aeróbio</p> <p><u>Intensidade:</u> alta.</p> <p><u>Duração:</u> 60 min</p> <p><u>Frequência:</u> 3x semana durante 6 meses.</p>	<p><u>Follow up:</u> 6 meses.</p> <p>Foram medidos os valores de CEPs aos 0 e aos 6 meses</p>	<p>↑ CEPs no grupo experimental comparativamente ao grupo de controlo com ICC, relativamente aos valores basais.</p> <p>↑ Capacidade migratória no grupo experimental, atingindo o nível do controlo de indivíduos saudáveis.</p>
<p>Van Craenenbroeck E. et al. 2010 (55)</p>	<p>22 indivíduos (82,8% masc), média de idades: 61,9 ± 2,5 Anos</p> <p>19 indivíduos (78,9% masc), média de idades: 63,0 ± 2,6 Anos</p>	<p>13 indivíduos (70,2% masc)</p> <p>Média de idades: 55,7 ± 1,6 Anos</p>	<p><u>Experimental:</u> 22 indivíduos com ICC moderada e 19 indivíduos com ICC severa submetidos a uma PE em bicicleta ergométrica.</p> <p><u>Controlo:</u> 13 indivíduos saudáveis submetidos a uma PE em bicicleta ergométrica.</p>	<p>PE em Bicicleta ergométrica.</p> <p><u>Tipo de exercício:</u> aeróbio</p> <p><u>Intensidade:</u> moderada.</p> <p><u>Frequência:</u> 1 única sessão.</p> <p><u>Duração:</u> N.R.</p>	<p>Foram medidos os valores de CEPs antes e após exercício.</p>	<p>Não se verificou aumento significativo das CEPs em nenhum dos grupos.</p> <p>Verificou-se um aumento da capacidade migratória das células com potencial angiogénico circulantes, com maior proeminência nos doentes com ICC severa .</p>

<p>Van Craenenbroeck E. et al. 2011 (57)</p>	<p>7 indivíduos (71% masc) Média de idades: 65,1 ± 3,5 Anos</p>	<p><u>2 grupos:</u> 4 indivíduos masc., média de idades: 20,3 ± 0,9 anos 4 indivíduos masc., média de idades: 71,5 ± 3 anos</p>	<p><u>Experimental:</u> Indivíduos com DCC submetidos a uma única sessão de exercício de alta intensidade. <u>Controlo:</u> Indivíduos saudáveis submetidos a uma única sessão de exercício de alta intensidade.</p>	<p>Uma única sessão de exercício. <u>Tipo de exercício:</u> Anaeróbio <u>Intensidade:</u> Alta</p>	<p>Foram medidos os valores de CEPs antes do exercício, 10, 30 min, e 1, 2, 4, 8, 12, 24 h após.</p>	<p>↑ CEPs com maior evidência no grupo de controlo, mantendo os valores elevados por mais de 2h. Valores no grupo experimental voltam ao nível basal após 30 min.</p>
<p>Eleuteri E. et al. 2013 (52)</p>	<p>11 indivíduos masculinos Média de idades: 66,0 ± 2 Anos</p>	<p>10 indivíduos masculinos Média de idades: 63,0 ± 2 Anos</p>	<p><u>Experimental:</u> Indivíduos com ICC submetidos a um programa de exercício por 3 meses. <u>Controlo:</u> Indivíduos com ICC sedentários.</p>	<p>Bicicleta ergométrica. <u>Tipo de exercício:</u> aeróbio <u>Intensidade:</u> moderada <u>Duração:</u> 40 min. <u>Frequência:</u> 5x semana</p>	<p><u>Follow up:</u> 3 meses. Foram medidos os valores de CEPs ao fim de 3 meses</p>	<p>↑ CEPs no grupo experimental comparativamente ao grupo de controlo</p>
<p>Sandri M. et al. 2016 (51)</p>	<p>15 indivíduos com idade ≤ 55 anos 15 indivíduos com idade ≥ 65 anos. Sexo: N.R.</p>	<p>15 indivíduos com idade ≤ 55 anos. 15 indivíduos com idade ≥ 65 anos. Sexo: N.R.</p>	<p><u>Experimental:</u> indivíduos com ICC com idade ≤ 55 ou ≥ 65 anos, submetidos a um programa de exercício supervisionado por 4 semanas. <u>Controlo:</u> indivíduos com ICC com idade ≤ 55 ou ≥ 65 anos, sedentários.</p>	<p>PE em bicicleta ergométrica <u>Tipo de exercício:</u> aeróbio <u>Intensidade:</u> alta <u>Duração:</u> 15-20 min <u>Frequência:</u> 4x semana durante 4 semanas. + 1 sessão de exercício semanal em grupo.</p>	<p><u>Follow up:</u> 4 semanas Foram medidos os valores de CEPs às 0 semanas e após 4 semanas de exercício.</p>	<p>↑ CEPs em ambos os grupos experimentais (idade ≤ 55 e ≥ 65 anos) relativamente aos níveis basais, não havendo diferença entre idades. ↑ Capacidade migratória em ambos os grupos experimentais.</p>

CEPs – Células Endoteliais Progenitoras, ICC – Insuficiência Cardíaca Crónica, masc – masculino, N.R. – Não Referido, PE – Prova de Esforço, RPM – Rotações por Minuto

DISCUSSÃO

As DCV são a principal causa de morte nos países desenvolvidos e estima-se que em 2030, mais de 40% da população terá alguma forma de DCV (58). A idade avançada é um conhecido fator de risco para o desenvolvimento de DCV devido à função endotelial que se encontra limitada e prejudicada (58,59). Existe também um desequilíbrio entre a inflamação, o stress oxidativo e fatores de vasodilatação que contribuem para a disfunção vascular endotelial e levam ao aumento do risco de desenvolver DCV (60).

As CEPs têm assumido uma importância cada vez maior no universo das DCV, juntamente com a evidência crescente que mostra que o número e a função das CEPs estão associados com os fatores de risco cardiovasculares, e que o número de CEPs circulantes prevê a ocorrência de eventos cardiovasculares e morte (6,60). O aumento do número das CEPs confere uma maior capacidade de regeneração, de tal forma que as terapias que destacam a mobilização e a funcionalidade das CEPs sejam capazes de mostrar um novo horizonte na otimização das estratégias terapêuticas para doentes com DCV (26). O exercício físico é benéfico para os indivíduos de todas as idades e tem sido usado com sucesso na prevenção e reversão de disfunção endotelial relacionada com a idade e com as DCV (5,61). O exercício crónico aeróbio previne a disfunção endotelial porque aumenta a biodisponibilidade do NO e melhora o equilíbrio das reações redox intracelulares (59).

Doença Arterial Coronária

Como se pode ver através da tabela que apresenta os resultados nos estudos em doentes com DAC, a prática regular de exercício é um dos parâmetros mais importantes nas prevenções primárias e secundárias de eventos cardiovasculares. (26) Nestes doentes, um aumento da necessidade de oxigénio e a isquemia do miocárdio, mesmo durante uma única sessão de exercício libertam uma maior quantidade de VEGF e otimizam mobilização de CEPs (28,33) , proporcionando uma melhor resposta contra o dano endotelial. O mesmo acontece com as VEs, pois uma única sessão de atividade física de resistência em indivíduos com 1 ou mais fatores de risco cardiometabólicos, provoca o aumento circulante de VEs, tendo um efeito cardioprotetor (21).

Assim como uma única sessão de atividade física tem poder para elevar os valores séricos destas substâncias, também a aplicação de um programa mais prolongado de exercício, como os programas de reabilitação cardiovascular, tem capacidade de aumentar e provocar um maior recrutamento de CEPs e de VEs em

doentes que sofrem de DCV, promovendo uma melhoria da função destas células e, conseqüentemente, contribuindo para angiogénese e neovascularização capazes de reparar e manter a integridade e função endoteliais (31,40).

A prática de exercício regular está recomendada em doentes que tenham tido um episódio de uma síndrome coronária aguda, como é o caso do EAM, pois os efeitos benéficos podem estar relacionados com uma melhoria na capacidade de recrutamento e na função das CEPs. A combinação de atividades de vida diária com um programa de exercício bissemanal traz benefícios no recrutamento de CEPs para melhoria do *outcome* destes doentes (40).

Contudo, é importante referir que nos estudos analisados, apesar de se verificar um aumento das CEPs e das VEs no grupo experimental, existe um aumento mais significativo no grupo de controlo, quando este é formado por indivíduos saudáveis (sem DCV) submetidos a atividade física (28,33). O mesmo não se verifica quando o grupo de controlo é composto por indivíduos com DCV e sedentários, pois nesses casos verifica-se um aumento significativo das CEPs e das VEs no grupo experimental, relativamente aos seus níveis basais (21,31,34,40). Isto reforça a ideia de que os doentes com DAC têm perturbações ao nível da mobilização e função das CEPs e das VEs, sendo necessários mais estudos funcionais que demonstrem e evidenciem esta hipótese.

A integração de doentes com DCV num programa de exercício está geralmente associado a melhorias nos valores de CEPs. No entanto, nem sempre ocorre uma elevação dos níveis destas células, uma vez que foi reportado que em indivíduos com DCC estável que foram submetidos a um programa de reabilitação cardíaca verificou-se uma diminuição destes valores no primeiro e terceiro meses de *follow-up*, comparativamente aos valores medidos imediatamente após o exercício físico (41).

Esta discrepância observada em relação aos outros estudos realizados, pode ser devida aos diferentes tipos de células analisadas, ao período ocorrido entre o exercício e a colheita de sangue; e à intensidade e duração dos exercícios. É também necessário referir que a mobilização de CEPs é dependente de NO (62), mas este efeito é relativamente curto e deixa de ter evidência 48h após o exercício, de maneira que as colheitas feitas após completar o programa de reabilitação podem ter influenciado os resultados.

Importante será referir que são escassos os estudos realizados com alvo nas VEs, comparativamente ao realizados nas CEPs, sendo necessário explorar mais esta área, não só na DAC como nas outras DCV.

Doença Arterial Periférica

A estimulação da angiogénese é um dos pontos centrais no tratamento dos doentes com DAP, principalmente em doentes com CI no estágio II da escala de Fontaine, em que a neoangiogénese é um tratamento de primeira linha (42). Nos doentes com PAD, o exercício físico é um dos alicerces para o tratamento desta patologia. É capaz de diminuir os valores dos monócitos pro inflamatórios CD14+ e CD16+, e também aumentar o recrutamento de CEPs (44).

Doentes diagnosticados com DAP submetidos a um único episódio de exercício físico, como é o caso do teste de esforço máximo em passadeira, apresentam um aumento dos valores circulantes de CEPs, mas não se verifica um aumento da sua capacidade migratória, podendo haver um compromisso da função destas células (50). Importante será ainda salientar uma aparente discrepância que se encontra ao nível dos resultados obtidos em estudos com grupos de controlo compostos por indivíduos saudáveis, submetidos ao exercício físico. Num estudo, o aumento é mais significativo no grupo de controlo (50), e no outro estudo esse aumento mais acentuado ocorre no grupo experimental (44). Tal variação poderá estar relacionada com o tipo de exercício aplicado a cada investigação (agudo e crónico) e, conseqüentemente, com os tempos de recolha das amostras, assim como também o estágio da DAP em que os doentes se encontram poderá influenciar os resultados. Será preciso uma análise mais aprofundada destes fatores que parecem ter impacto no resultado.

O mesmo acontece quando indivíduos que sofrem com DAP são integrados num programa de exercício físico supervisionado durante 6 meses, em que se verifica um aumento dos níveis circulantes de CEPs, e da sua capacidade migratória, contribuindo para a melhoria de sintomas, como o caso da CI, e conseqüentemente melhorando a sua capacidade de caminhar (42).

Como estes doentes enfrentam, na generalidade, um risco cardiovascular alto, são utilizadas estratégias terapêuticas agressivas, baseadas em intervenções farmacológicas, de modo a modificar esse elevado risco. A mobilização de CEPs tem sido o novo alvo em estudo para a prevenção e tratamento de DCV, em particular de DAP.

Importante será referir que não existem estudos realizados tendo como foco as VEs e o aumento destas em consequência do exercício em doentes com DAP, sendo necessário investigar mais esta área.

Insuficiência Cardíaca Crônica

A redução da qualidade de vida e a intolerância ao exercício físico são os principais sintomas da ICC. A função endotelial está prejudicada nos doentes com ICC e esta está associada a uma maior mortalidade (51). A prática de exercício físico pode melhorar esta disfunção do endotélio e, também, aumentar a capacidade de exercício na ICC. A atividade física pode levar a uma modelação das citoquinas pro inflamatórias nos pacientes com ICC (52).

A carga vascular oxidativa pode estimulada por uma única sessão de exercício físico, tanto aeróbio como anaeróbio, provocando assim uma melhoria nos mecanismos de reparação do endotélio, através do aumento do recrutamento e mobilização de CEPs (56). Apesar de se poder não verificar um aumento significativo do número de CEPs circulantes, pode haver um aumento da capacidade migratória das células com potencial angiogénico circulantes (55).

Tal como acontece na DAC e na DAP em que se evidencia um aumento das CEPs em doentes submetidos a períodos prolongados de exercício físico, os doentes com ICC não são exceção. Quando submetidos a um programa de reabilitação cardiovascular por 3 meses, estes doentes apresentam um aumento nos níveis séricos de CEPs, comparativamente aos seus níveis basais (52). Tal também acontece se integrarem um programa de exercício de 1 ou de 6 meses, alcançando resultados idênticos na elevação dos valores de CEPs (51,56). Importante é referir que nestes doentes existe também aumento da capacidade migratória destas células, promovendo assim uma melhoria na sua disfunção endotelial. Isto pode ser clinicamente relevante nestes doentes (51,56).

É clara a relação que existe entre o exercício físico e o impacto positivo que este tem ao nível do endotélio e na sua reparação, de tal modo que este é recomendado pela Sociedade Europeia de Cardiologia em doentes com ICC (52).

Porém, deve referir-se que nos estudos analisados, apesar de se verificar um aumento das CEPs grupo experimental, existe um aumento mais significativo no grupo de controlo, quando este é formado por indivíduos saudáveis, sem ICC (55,57). O mesmo não se verifica quando o grupo de controlo é composto por indivíduos com ICC e sedentários, pois nesses casos verifica-se um aumento significativo das CEPs no grupo experimental, relativamente aos seus níveis basais (52,56). É necessário um estudo mais profundo destes doentes pois estas diferenças podem relacionar-se com a menor capacidade de migração e da função destas células nestes indivíduos, sendo precisos mais estudos funcionais que demonstrem esta hipótese.

É de salientar que não existem estudos realizados em doentes com ICC sobre a libertação VEs s em resposta ao exercício. Assim, é necessário investigar mais esta área.

Importância na prática clínica

São evidentes os benefícios que a prática de exercício físico traz, tanto para a população saudável como para a população com DCV, ao nível das prevenções primária e secundária. Como foi possível ver nos estudos avaliados nesta revisão, existe uma forte relação entre o exercício físico e o aumento dos níveis circulantes de CEPs e de VEs nos doentes com DCV.

Face à evidência científica que que relata o papel fundamental que estas substâncias têm na reparação da integridade endotelial, recorrendo a processos de angiogénese e neovascularização, esta ligação com a atividade física, tanto , tanto aguda, sub crónica como crónica, pode ter impacto na elaboração de um tratamento e de uma estratégia terapêutica a aplicar a cada doente, podendo melhorar o seu *outcome*, atuando na prevenção de eventos cardiovasculares, consequentemente, na diminuição de mortalidade e morbidade associadas.

Desafios Futuros

As CEPs e as VEs têm vindo a ser um grande alvo de estudo nas DCV, embora existam mais investigações direcionadas às CEPs, sendo necessário explorar mais a área relativa às VEs. Vários estudos demonstram a necessidade de aumentar os valores das CEPs , e também das VEs ,através do exercício físico, de maneira a permitir uma suficiente neovascularização e uma reparação endotelial eficaz. No entanto, a heterogeneidade que existe nos programas de exercício aplicados às diferentes amostras, não permite saber qual será o programa mais adequado e o que apresentará melhores resultados. São também precisos mais estudos funcionais. No futuro, deverão ter em conta esta limitação para saber identificar qual o melhor tipo de exercício, qual a duração mais adequada e qual a melhor intensidade a aplicar nos programas de reabilitação das DCV. Esta heterogeneidade também se aplica na quantificação de CEPs e no seu número absoluto, pois existe uma grande variabilidade nos diferentes marcadores usados para a identificação e quantificação do número absoluto de CEPs

circulantes, sendo necessário encontrar uma estratégia única e uniformizada de quantificação.

As DCV como a DAC, a DAP, a ICC são os maiores alvos deste tipo de investigação, de tal modo que, futuramente, o foco devia ser abrangido a outro tipo de patologia tipo de patologias, sendo que ainda são precisos mais estudos para retirarmos conclusões mais fortes sobre o verdadeiro efeito do exercício nas CEPs e as VEs neste tipo de patologia.

Uma larga percentagem de indivíduos com DCV permanece inativa. As razões para esta falta de participação nos programas de atividade física ou atividades desportivas são inúmeras e vão desde a falta de motivação até ao compromisso que pode ocorrer a nível cardiovascular ou musculoesquelético, principalmente nos idosos. Uma estratégia instrumental que pode combater esta inatividade poderá passar aumentar o gasto de energia através de exercícios e movimentos que estão incluídos na rotina da vida diária dos indivíduos, como por exemplo subir escadas ou jardinagem. Outra direção futura, que ainda está em falta, é medir objetivamente a aderência e *compliance* aos programas de exercício em cada estudo.

Limitações

Existiram algumas limitações na elaboração desta revisão. Um delas é relativa à quantificação dos dados, pois a quantidade pequena de estudos realizados em humanos combinada com a heterogeneidade das populações em estudos e das variáveis, não permitiram fazer uma análise quantitativa dos dados, principalmente nos estudos relacionados com as VEs. A escassez em estudos funcionais tanto as CEPs como nas VEs também limitaram este estudo. Outra limitação encontrada foi ao nível da descrição das populações nos métodos, pois diversos estudos não especificavam as características das populações em estudo ou do programa de exercício aplicado a esses mesmos grupos. Também a heterogeneidade que existe nos métodos de quantificação do número circulantes de CEPs e da sua quantificação absoluta, não permite uma correlação entre estudos muito eficaz. Também o facto de haver poucos estudos por cada patologia específica de DCV aliado à heterogeneidade entre os próprios estudos disponíveis, não permitiu abordar este tema de uma perspetiva de revisão sistemática mais tradicional com meta-análise.

Apesar de haver uma quantidade considerável de investigações, o tamanho dos grupos em estudo de cada uma eram limitados e não representativos da população em

geral, sendo necessário estender os resultados obtidos a uma população de maior escala.

CONCLUSÃO

A prática de exercício físico é cada vez mais importante para melhorar o *outcome* dos doentes com DCV, prevenindo a ocorrência de eventos cardiovasculares, diminuindo assim a mortalidade e a morbilidade associadas.

Esta revisão narrativa evidencia que existe efetivamente uma estreita ligação entre a prática de exercício físico e uma maior mobilização e recrutamento de CEPs e VEs em doentes com DCV. Esta elevação dos níveis circulantes destas substâncias pode conduzir a uma melhoria da função e reparação endoteliais, através da reparação vascular por processos de neovascularização e angiogénese.

AGRADECIMENTOS

Os meus agradecimentos são destinados e dirigem-se a todas as pessoas que tornaram possível a elaboração desta tese de mestrado, principalmente ao meu orientador, o Doutor Alexandre Rebelo-Marques por todo o auxílio, disponibilidade e ajuda que me concedeu ao longo do trabalho; ao meu co-orientador, o Professor Doutor Frederico Pereira que aceitou fazer parte deste trabalho; ao Doutor Renato Andrade pela disponibilidade e acompanhamento na realização do trabalho, principalmente no tratamento dos dados e na elaboração de todo o trabalho; a toda a minha família, especialmente aos meus pais, às minhas irmãs e ao meu namorado, por todo o apoio que me deram, por toda a compreensão e paciência que tiveram durante a elaboração desta tese.

A todos, o meu mais sincero agradecimento.

REFERÊNCIAS

1. Cavalcante SL, Lopes S, Bohn L, Cavero-Redondo I, Álvarez-Bueno C, Viamonte S, et al. Effects of exercise on endothelial progenitor cells in patients with cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Rev Port Cardiol (English Ed)*. 2019;38(11):817–27.
2. Savoia C, Grassi G. Exercise activity and endothelial function: The uprising role of endothelial progenitor cells in vascular protection. *J Hypertens*. 2012;30(11):2083–4.
3. Sharma S, Merghani A, Mont L. Exercise and the heart: The good, the bad, and the ugly. *Eur Heart J*. 2015;36(23):1445–53.
4. Frühbeis C, Helmig S, Tug S, Simon P, Krämer-Albers EM. Physical exercise induces rapid release of small extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*. 2015;4(1).
5. Devan AE, Seals DR. Vascular health in the ageing athlete. *Exp Physiol*. 2012;97(3):305–10.
6. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*. 2001;89(1):1–8.
7. Möbius-Winkler S, Höllriegel R, Schuler G, Adams V. Endothelial progenitor cells: Implications for cardiovascular disease. *Cytom Part A*. 2009;75(1):25–37.
8. Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M, Kalka C. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(9):1441–8.
9. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van Der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science (80-)*. 1997;275(5302):964–7.
10. De Biase C, De Rosa R, Luciano R, De Luca S, Capuano E, Trimarco B, et al. Effects of physical activity on endothelial progenitor cells (EPCs). *Front Physiol*. 2013;4:1–7.
11. Zampetaki A, Kirton JP, Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res*. 2008;78(3):413–21.
12. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic

- neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(7):3422–7.
13. Tbm D. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of. 1999;5(4).
 14. Galasso G, De Rosa R, Ciccarelli M, Sorriento D, Del Giudice C, Strisciuglio T, et al. B2-Adrenergic Receptor Stimulation Improves Endothelial Progenitor Cell-Mediated Ischemic Neoangiogenesis. *Circ Res*. 2013;112(7):1026–34.
 15. França C, Izar MC, Amaral J, Fonseca F. Micropartículas e células progenitoras : novos marcadores da disfunção endotelial. *Rev Soc Cardiol Estado São Paulo*. 2013;23(4):33–9.
 16. Heil M, Ziegelhoeffer T, Mees B, Schaper W. A Different Outlook on the Role of Bone Marrow Stem Cells in Vascular Growth: Bone Marrow Delivers Software not Hardware. *Circ Res*. 2004;94(5):573–4.
 17. Dzau VJ, Gnechchi M, Pachori AS, Morello F, Melo LG. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Hypertension*. 2005;46(1):7–18.
 18. Cassese S, Galasso G, Sciahbasi A, Scacciatella P, Muçaj A, Piccolo R, et al. Antiplatelet therapy after Genous EPC-capturing coronary stenosis implantation: The ARGENTO Study: A prospective, multicenter registry. *Int J Cardiol*. 2013;167(3):757–61.
 19. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:255–89.
 20. Kowal J, Tkach M, Théry C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol*. 2014;29(1):116–25.
 21. Bei Y, Xu T, Lv D, Yu P, Xu J, Che L, et al. Exercise-induced circulating extracellular vesicles protect against cardiac ischemia–reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2017;112(4).
 22. Revenfeld ALS, Bæk R, Nielsen MH, Stensballe A, Varming K, Jørgensen M. Diagnostic and prognostic potential of extracellular vesicles in peripheral blood. *Clin Ther*. 2014;36(6):830–46.
 23. Volaklis KA, Tokmakidis SP, Halle M. Acute and chronic effects of exercise on circulating endothelial progenitor cells in healthy and diseased patients. *Clin Res Cardiol*. 2013;102(4):249–57.
 24. George AL, Bangalore-Prakash P, Rajoria S, Suriano R, Shanmugam A, Mittelman A, et al. Endothelial progenitor cell biology in disease and tissue

- regeneration. *J Hematol Oncol*. 2011;4:1–8.
25. Leone AM, Valgimigli M, Giannico MB, Zacccone V, Perfetti M, D’Amario D, et al. From bone marrow to the arterial wall: The ongoing tale of endothelial progenitor cells. *Eur Heart J*. 2009;30(8):890–9.
 26. Ribeiro F, Ribeiro IP, Alves AJ, Do Céu Monteiro M, Oliveira NL, Oliveira J, et al. Effects of exercise training on endothelial progenitor cells in cardiovascular disease: A systematic review. *Am J Phys Med Rehabil*. 2013;92(11):1020–30.
 27. Wang J, Liu H, Chen S, Zhang W, Chen Y, Yang Y. Moderate exercise has beneficial effects on mouse ischemic stroke by enhancing the functions of circulating endothelial progenitor cell-derived exosomes. *Exp Neurol*. 2020;330:113325.
 28. Kaźmierski M, Wojakowski W, Michalewska-Włudarczyk A, Podolecka E, Kotowski M, Machaliński B, et al. Exercise-induced mobilisation of endothelial progenitor cells in patients with premature coronary heart disease. *Kardiol Pol*. 2015;73(6):411–8.
 29. Nanni S, Melandri G, Hanemaaijer R, Cervi V, Tomasi L, Altimari A, et al. Matrix metalloproteinases in premature coronary atherosclerosis: influence of inhibitors, inflammation, and genetic polymorphisms. *Transl Res*. 2007;149(3):137–44.
 30. Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S, Moliterno DJ, Rogers WJ, Newby LK, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulation*. 2001;104(22):2641–4.
 31. Kränkel N, Strässler E, Uhlemann M, Müller M, Briand-Schumacher S, Klingenberg R, et al. Extracellular vesicle species differentially affect endothelial cell functions and differentially respond to exercise training in patients with chronic coronary syndromes. *Eur J Prev Cardiol*. 2020;
 32. Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, Wang T, Gregg D, Ramaswami P, et al. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. *Circulation*. 2003;108(4):457–63.
 33. Rummens JL, Daniëls A, Dendale P, Hensen K, Hendrikx M, Berger J, et al. Suppressed increase in blood endothelial progenitor cell content as result of single exhaustive exercise bout in male revascularised coronary artery disease patients. *Acta Clin Belg*. 2012;67(4):262–9.
 34. Adams V, Lenk K, Linke A, Lenz D, Erbs S, Sandri M, et al. Increase of Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients with Coronary Artery Disease after

- Exercise-Induced Ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(4):684–90.
35. Wojakowski W, Kucia M, Kaźmierski M, Ratajczak MZ, Tendera M. Circulating progenitor cells in stable coronary heart disease and acute coronary syndromes: Relevant reparatory mechanism? *Heart.* 2008;94(1):27–33.
 36. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2001;103(23):2776–9.
 37. Wojakowski W, Landmesser U, Bachowski R, Jadczyk T, Tendera M. Mobilization of stem and progenitor cells in cardiovascular diseases. *Leukemia.* 2012;26(1):23–33.
 38. Iwakura A, Shastry S, Luedemann C, Hamada H, Kawamoto A, Kishore R, et al. Estradiol enhances recovery after myocardial infarction by augmenting incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells into sites of ischemia-induced neovascularization via endothelial nitric oxide synthase-mediated activation of matrix m. *Circulation.* 2006;113(12):1605–14.
 39. Safdar A, Saleem A, Tarnopolsky MA. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(9):504–17.
 40. Krüger K, Klocke R, Kloster J, Nikol S, Waltenberger J, Mooren FC. Activity of daily living is associated with circulating CD34 +/KDR+ cells and granulocyte colony-stimulating factor levels in patients after myocardial infarction. *J Appl Physiol.* 2014;116(5):532–7.
 41. Gagliardi JA, Maciel N, Castellano JL, Masoli O, Miksztowicz V, Berg G, et al. Relationship between endothelial progenitor cells and vascular endothelial growth factor and its variation with exercise. *Thromb Res.* 2016;137:92–6.
 42. Schlager O, Giurgea A, Schuhfried O, Seidinger D, Hammer A, Gröger M, et al. Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric dimethylarginine in peripheral arterial disease: A randomized controlled trial. *Atherosclerosis.* 2011;217(1):240–8.
 43. Caro J, Migliaccio-Walle K, Ishak KJ, Proskorovsky I. The morbidity and mortality following a diagnosis of peripheral arterial disease: Long term follow-up of a large database. *BMC Cardiovasc Disord.* 2005;5:1–8.
 44. Dopheide JF, Geissler P, Rubrech J, Trumpp A, Zeller GC, Daiber A, et al. Influence of exercise training on proangiogenic TIE-2 monocytes and circulating angiogenic cells in patients with peripheral arterial disease. *Clin Res Cardiol.*

- 2016;105(8):666–76.
45. Hardman RL, Jazaeri O, Yi J, Smith M, Gupta R. Overview of classification systems in peripheral artery disease. *Semin Intervent Radiol*. 2014;31(4):378–88.
 46. William R. Hiatt. Medical Treatment of Peripheral arterial Disease and Claudication. *N Engl J Med*. 2005;344(21):1608–21.
 47. Benefits F, Training OFE. E Xercise T Raining for C Laudication of Exercise Training. *English J*. 2005;347(24):1941–51.
 48. Fokkenrood HJP, Bendermacher BLW, Lauret GJ, Willigendael EM, Prins MH, Teijink JAW. Supervised exercise therapy versus non-supervised exercise therapy for intermittent claudication. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(8).
 49. Wang H, Keiser JA. Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: Role of flt-1. *Circ Res*. 1998;83(8):832–40.
 50. Sandri M, Beck EB, Adams V, Gielen S, Lenk K, Höllriegel R, et al. Maximal exercise, limb ischemia, and endothelial progenitor cells. *Eur J Prev Cardiol*. 2011;18(1):55–64.
 51. Sandri M, Viehmann M, Adams V, Rabald K, Mangner N, Höllriegel R, et al. Chronic heart failure and aging - Effects of exercise training on endothelial function and mechanisms of endothelial regeneration: Results from the Leipzig Exercise Intervention in Chronic heart failure and Aging (LEICA) study. *Eur J Prev Cardiol*. 2016;23(4):349–58.
 52. Eleuteri E, Mezzani A, Di Stefano A, Vallese D, Gnemmi I, Delle Donne L, et al. Aerobic training and angiogenesis activation in patients with stable chronic heart failure: A preliminary report. *Biomarkers*. 2013;18(5):418–24.
 53. Adams V, Nehrhoff B, Späte U, Linke A, Schulze PC, Baur A, et al. Induction of iNOS expression in skeletal muscle by IL-1 β and NF κ B activation: An in vitro and in vivo study. *Cardiovasc Res*. 2002;54(1):95–104.
 54. Mann DL, Reid MB. Exercise training and skeletal muscle inflammation in chronic heart failure: Feeling better about fatigue. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(5):869–72.
 55. Van Craenenbroeck EM, Beckers PJ, Possemiers NM, Wuyts K, Frederix G, Hoymans VY, et al. Exercise acutely reverses dysfunction of circulating angiogenic cells in chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2010;31(15):1924–34.
 56. Van Craenenbroeck EM, Hoymans VY, Beckers PJ, Possemiers NM, Wuyts K, Paelinck BP, et al. Exercise training improves function of circulating angiogenic

- cells in patients with chronic heart failure. *Basic Res Cardiol*. 2010;105(5):665–76.
57. Van Craenenbroeck EM, Bruyndonckx L, Van Berckelaer C, Hoymans VY, Vrints CJ, Conraads VM. The effect of acute exercise on endothelial progenitor cells is attenuated in chronic heart failure. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111(9):2375–9.
 58. Seals DR, Jablonski KL, Donato AJ. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin Sci*. 2011;120(9):357–75.
 59. Landers-Ramos RQ, Corrigan KJ, Guth LM, Altom CN, Spangenburg EE, Prior SJ, et al. Short-term exercise training improves flow-mediated dilation and circulating angiogenic cell number in older sedentary adults. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(8):832–41.
 60. Kleinman ME, Blei F, Gurtner GC. Circulating endothelial progenitor cells and vascular anomalies. *Lymphat Res Biol*. 2005;3(4):234–9.
 61. Grace FM, Herbert P, Ratcliffe JW, New KJ, Baker JS, Sculthorpe NF. Age related vascular endothelial function following lifelong sedentariness: Positive impact of cardiovascular conditioning without further improvement following low frequency high intensity interval training. *Physiol Rep*. 2015;3(1):1–13.
 62. Cubbon RM, Murgatroyd SR, Ferguson C, Bowen TS, Rakobowchuk M, Baliga V, et al. Human exercise-induced circulating progenitor cell mobilization is nitric oxide-dependent and is blunted in South Asian men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(4):878–84.