



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU  
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO  
EM MEDICINA**

**MARIANA CALADO MARTINS MINA**

***COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE EPC'S CIRCULANTES  
DOS DOENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA  
AVANÇADA DE ETIOLOGIA ISQUÉMICA VERSUS NÃO  
ISQUÉMICA: UM ESTUDO PROSPECTIVO***

**PROJECTO DE INVESTIGAÇÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE CARDIOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**PROFESSOR DOUTOR LINO GONÇALVES**

**PROFESSORA NATÁLIA ANTÓNIO**

**MARÇO / 2015**

**TÍTULO:**

COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE EPC'S CIRCULANTES DOS DOENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA AVANÇADA DE ETIOLOGIA ISQUÉMICA VERSUS NÃO ISQUÉMICA: UM ESTUDO PROSPECTIVO

**AUTORES:**

Mariana Mina<sup>1</sup>; Natália António, Prof. Dra.<sup>1,2</sup>; Miguel Ventura, Dr.<sup>2</sup>; João Cristóvão, Dr.<sup>2</sup>; Luís Elvas, Dr.<sup>2</sup>; Guilherme Mariano Pêgo, Dr.<sup>2</sup>; Lino Gonçalves, Prof. Dr.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>- Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Azinhaga de Santa Comba, Celas, 300-354 Coimbra, Portugal

<sup>2</sup>- Serviço de Cardiologia A, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

<sup>3</sup>- Serviço de Cardiologia B, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

**CONTACTOS:**

Correio eletrónico: [linog@huc.min-saude.pt](mailto:linog@huc.min-saude.pt)

## **RESUMO**

### Introdução:

A terapêutica de ressincronização cardíaca (TRC) tem demonstrado a sua eficácia no tratamento da insuficiência cardíaca (IC) avançada. No entanto, cerca de 30% dos doentes não respondem positivamente a esta terapêutica. Torna-se por isso necessário encontrar critérios de seleção que consigam identificar os doentes que mais beneficiam com a implantação destes dispositivos. Embora controversa, tem sido levantada a hipótese da etiologia da IC poder condicionar a resposta à TRC. Por outro lado, estudos recentes sugerem que os níveis circulantes de células endoteliais progenitoras (EPC's), essenciais na regeneração do endotélio vascular após uma lesão, possam ser usados como preditores da resposta à TRC.

### Objetivo:

O objetivo deste estudo foi quantificar os níveis de EPC's circulantes em doentes com IC avançada submetidos a TRC, comparando etiologia isquémica e não isquémica, de forma a tentar determinar se estas células influenciam a resposta à terapêutica.

### População e Métodos:

Foram estudados 60 doentes com IC avançada (14 de etiologia isquémica e 46 não isquémicos), submetidos a TRC entre Outubro de 2009 e Setembro de 2012. Foram analisados parâmetros clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos antes e 6 meses depois do procedimento, de forma a avaliar a resposta à terapêutica. As EPC's foram quantificadas através de citometria de fluxo, avaliando as populações celulares CD45dimCD133+KDR+, CD45dimCD34+KDR+, CD45dimCD133+CD34+KDR+ e CD45dimCD34+KDR+CXCR4+.

### Resultados:

Cerca de 67% dos doentes estudados responderam à TRC. A predominância de EPC's circulantes nos doentes com miocardiopatia não isquémica foi observada para as subpopulações CD45dimCD34+KDR+CD133+ ( $1,00 \pm 3,50\%$  vs.  $0,38 \pm 0,37\%$ ,  $p = 0,700$ ), CD45dimCD133+KDR+ ( $0,78 \pm 0,63\%$  vs.  $0,16 \pm 0,11\%$ ,  $p = 0,040$ ) e CD45dimCD34+KDR+ ( $2,40 \pm 4,46\%$  vs.  $0,90 \pm 0,34\%$ ,  $p = 0,465$ ). Com a TRC, observou-se um aumento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo de  $3,7 \pm 5,3$  no grupo de IC isquémica e de  $9,4 \pm 10,8$  no grupo de IC não isquémica ( $p = 0,015$ ). A variação do volume telessistólico do ventrículo esquerdo foi também significativamente maior no grupo da MCP não isquémica ( $44,4 \pm 71,1$  ml vs.  $1,8 \pm 30,8$  ml,  $p = 0,015$ ).

### Conclusão:

As EPC's circulam em níveis mais elevados nos doentes com IC de etiologia não isquémica, o que parece indicar uma vantagem na resposta deste grupo à TRC.

### Palavras-chave:

Células Endoteliais Progenitoras, Terapia de Ressincronização Cardíaca, Insuficiência Cardíaca, Etiologia, Isquémica

## **ABSTRACT**

### Background:

The cardiac resynchronization therapy (CRT) is a well recognized and important treatment of advanced heart failure (HF). However, up to 30% of patients do not respond positively and it became necessary to improve the selection criteria and to identify patients who will benefit the most from this therapy. Recent studies indicate that circulating levels of endothelial progenitor cells (EPC's), essential in the regeneration of vascular endothelium after injury, can be used as predictors of response to CRT.

### Objective:

The aim of this study was to quantify EPC levels in patients with advanced ischemic and non-ischemic HF, in order to determine whether these cells may influence the response to CRT.

### Methods:

Prospective study of 60 patients with advanced HF (14 of ischemic and 46 of non-ischemic etiology) who underwent CRT between October 2009 and September 2012. A clinical, laboratory and echocardiographic evaluation was performed before and 6 months after the implant. EPC's were quantified by flow cytometry using conjugated antibodies. Four main cell populations were analyzed: CD45dimCD133+KDR+, CD45dimCD34+KDR+, CD45dimCD133+CD34+KDR+ and CD45dimCD34+KDR+CXCR4+.

### Results:

Approximately 67% of the studied patients responded positively to CRT. Higher levels of circulating EPC's were found in non-ischemic HF:  $1,00 \pm 3,50\%$  vs.  $0,38 \pm 0,37\%$ , for

CD45dimCD34+KDR+CD133+ cells ( $p=0,700$ ),  $0,78 \pm 0,63\%$  vs.  $0,16 \pm 0,11\%$  for CD45dimCD133+KDR+ cells ( $p=0,040$ ) and  $2,40 \pm 4,46\%$  vs.  $0,90 \pm 0,34\%$  for CD45dimCD34+KDR+ cells ( $p=0,465$ ). We found that CRT presented benefits for both etiology groups, however non-ischemic HF had greater echocardiographic improvements in left ventricular ejection fraction ( $9,4 \pm 10,8$  vs.  $3,7 \pm 5,3$ ,  $p = 0,015$ ) and left ventricular end-systolic volume ( $44,4 \pm 71,1$  ml vs.  $1,8 \pm 30,8$  ml,  $p = 0,015$ ).

Conclusion:

HF patients with non-ischemic etiology have higher levels of circulating EPCs, what may be an advantage to the response to CRT.

Keywords:

Endothelial Progenitor Cells, Cardiac Resynchronization Therapy, Heart Failure, Etiology, Ischemic

## INTRODUÇÃO

As células progenitoras endoteliais (EPC's) são células estaminais adultas multipotentes, com origem na medula óssea, que são mobilizadas para a circulação periférica em resposta a vários estímulos. As EPC's desempenham um papel crucial na neovascularização pós-natal, sendo essenciais para a reparação vascular e manutenção da homeostasia vascular (1).

Foi em 1997 que Asahara primeiro descreveu a presença de EPC's no sangue periférico do adulto (2). Contrariando a hipótese de que a angiogênese seria a única responsável pela reparação endotelial e crescimento de vasos após o nascimento, Asahara demonstrou que as EPC's eram capazes de aderir ao endotélio vascular e iniciar um processo de vasculogênese pós-natal, que apenas se pensava ocorrer durante a embriogênese (2).

Desde então, diversos estudos têm demonstrado que estas células, capazes de se diferenciar em células endoteliais maduras, têm um papel fundamental na neovascularização e remodelação do tecido endotelial lesado, tendo efeitos benéficos no sistema cardiovascular (3–5).

Diferentes populações celulares podem ser consideradas EPC's, possuindo cada subtipo um conjunto de marcadores de superfície característico. Contudo, por definição, as EPC's típicas expressam marcadores estaminais (CD34 e/ou CD133) e endoteliais (CD31, CD146 e/ou VEGFR-2, também designado por KDR). Ao passarem para o sangue periférico, durante o processo de diferenciação, as EPC's vão perdendo o marcador CD133 e adquirem, entre outros, o fator von Willebrand, tornando-se mais maduras (6–8).

Uma função endotelial anormal, com diminuição da capacidade vasodilatadora, está muitas vezes presente na insuficiência cardíaca (IC) avançada (9,10). O aumento da resistência vascular periférica e as alterações da perfusão miocárdica contribuem para o déficit da contração ventricular. Ocorre uma dilatação e reorganização progressivas do músculo cardíaco, com perda de função, e este processo, designado de remodelação ventricular, agrava os sintomas da IC (11).

Nos doentes com IC avançada, após a falência do tratamento farmacológico otimizado, a terapêutica de ressincronização cardíaca (TRC) é usada como último recurso antes do transplante cardíaco (12). Através de um conjunto de alterações anatomofisiológicas no miocárdio (incluindo a remodelação inversa), estes dispositivos mecânicos contrariam a progressão da IC e têm efeitos benéficos quer em termos de sintomatologia e qualidade de vida, quer na redução da mortalidade (13,14). Estudos prévios demonstraram que a utilização da TRC estimula a libertação de EPC's no sangue periférico, sugerindo que estas células contribuem para a recuperação das dimensões e função contráctil do coração (15). A quantificação dos níveis de EPC's circulantes tem sido proposta como fator preditivo da eficácia da TRC (16).

Apesar das vantagens comprovadas da TRC, aproximadamente 30% dos doentes continuam a não responder a esta terapêutica (12,17). Os doentes com miocardiopatia (MCP) isquémica, principal causa de IC nos países ocidentais, apresentam geralmente uma resposta menos favorável à TRC que os doentes com IC de etiologia não-isquémica, apesar de poucos estudos compararem diretamente as duas etiologias (18,19).

Este estudo visa comparar, entre outros parâmetros, os níveis de EPC's circulantes em doentes com insuficiência cardíaca avançada de etiologia isquémica e não isquémica, submetidos a TRC, procurando verificar se diferenças nos níveis de EPC's circulantes poderiam justificar as diferenças de resposta à terapêutica de ressincronização cardíaca entre os dois grupos etiológicos.



## **POPULAÇÃO E MÉTODOS**

### **População em estudo**

Este é um estudo prospetivo de 60 doentes com insuficiência cardíaca avançada, submetidos a TRC entre Outubro de 2009 e Setembro de 2012, num centro único. Foram avaliados parâmetros demográficos, clínicos (incluindo a classificação NYHA) e ecocardiográficos de cada doente antes e 6 meses depois da TRC. Todos os doentes estavam sob terapêutica médica otimizada aquando a participação no estudo.

Dos critérios de inclusão fazem parte uma fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE)  $\leq 35\%$ , QRS  $\geq 120$  ms com padrão de bloqueio do ramo esquerdo e presença de ritmo sinusal.

Como critérios de exclusão consideraram-se: doença cardíaca congénita, doença valvular grave, síndrome coronária aguda ou intervenção coronária percutânea nos últimos 3 meses, cirurgia de revascularização do miocárdio ou implantação de dispositivo de pacing cardíaco realizada anteriormente, doença arterial oclusiva periférica grave, existência de anemia (hemoglobina  $< 8,5$  g/dL), insuficiência renal (creatinina  $> 2,0$  mg/dL) ou hipertensão arterial grave ou não controlada (pressão arterial sistólica  $> 180$  mmHg ou diastólica  $> 110$  mmHg), hemorragia com necessidade de transfusão sanguínea nos últimos 6 meses, doença inflamatória ou infecciosa concomitante, doença autoimune ou neoplásica, trauma ou cirurgia no último mês, existência de choque cardiogénico, gravidez, terapêutica que incluísse a toma de anti-inflamatórios não esteróides, aminas vasoativas ou anticoagulantes, esperança média de vida inferior a um ano ou consumo excessivo de álcool ou consumo de drogas de abuso.

Todos os doentes assinaram um consentimento informado, tendo o estudo sido aceite pela Comissão de Ética local e estando de acordo com os critérios da Declaração de Helsínquia.

## **Terapêutica de Ressincronização Cardíaca**

Através de um acesso venoso, o eletrodo-guia de pacing do ventrículo esquerdo (VE) foi colocado numa veia cardíaca lateral ou postero-lateral, atravessando o seio coronário, através de um sistema “over-the-wire”.

Para estimulação da aurícula e ventrículo direito, colocaram-se catéteres bipolares standard no apêndice auricular e no ápex do ventrículo direitos, respetivamente. No caso da implantação do eletrodo do VE não ser adequadamente conseguida, optou-se por uma veia cardíaca anterior ou abordagem epicárdica.

Foram implantados dispositivos combinados (CRT-D) nos doentes em que se mostrou necessária a colocação de um cardioversor-desfibrilhador (CDI), para além do sistema de pacemaker.

## **Avaliação Ecocardiográfica**

Foram utilizados ecocardiógrafos Vivid 7 (GE Healthcare, Oslo, Noruega) com transdutor 1,7-3,4 MHz, através de softwares adequados (EchoPAC, GE Healthcare).

As dimensões do VE foram medidas a partir de ecocardiogramas em modo-M na incidência parasternal de eixo longo. O volume telessistólico e telediastólico do ventrículo esquerdo e a FEVE foram calculados pelo método de Simpson biplano, nas incidências apicais quatro e duas câmaras.

Para detetar assincronia, foi avaliado o tempo de atraso entre o início do complexo QRS no eletrocardiograma e o início da onda sistólica por doppler tecidual, nos quatro segmentos basais do VE (septo, lateral, anterior e inferior). A dessincronia intraventricular (max delay) foi calculada como a diferença entre o maior e o menor atraso.

Foi também calculado o índice Yu (dessincronia eletromecânica nos 12 segmentos basais e médios do ventrículo esquerdo).

A avaliação da dessincronia interventricular (delay) consistiu na diferença entre os tempos de pré-ejeção aórtico e pulmonar, avaliados em incidência apical 5 câmaras e paraesternal de eixo curto, respetivamente.

### **Colheita de sangue e citometria de fluxo**

Foram colhidas amostras sanguíneas para avaliação dos seguintes parâmetros analíticos: glicémia, hemoglobina, ácido úrico, sódio e potássio, creatinina, provas hepáticas e ficha lipídica. Foram também colhidas amostras de sangue venoso, armazenado em tubos EDTA, para quantificação de EPC's circulantes, processo realizado até 2 horas após a colheita.

Para quantificação das EPC's por citometria de fluxo, realizou-se incubação no escuro durante 30 minutos e a 4°C com um preparado de: 150 µL de sangue do doente, 5 µL de anticorpo monoclonal anti-CD45 conjugado com o fluorocromo alofocianina-H7 (APC-H7) (Becton Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, USA), 10 µL de anticorpo monoclonal anti-KDR/VEGF-R2 conjugado com ficoeritrina (PE) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), 10 µL de anticorpo monoclonal anti-CD34 conjugado com isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Becton Dickinson and Co.), 10 µL de anticorpo monoclonal anti-CD133 conjugado com APC (Miltenyi Biotec Inc., Auburn, CA, USA) e 10 µL de anticorpo monoclonal anti-CD184/CXCR4 conjugado com PE-Cy5 (BD Pharmingen, BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Para lise das amostras, foi utilizada a solução Fluorescence-Activated Cell Sorting Lysing Solution (BD Biosciences) diluída numa proporção de 1:10 com água destilada. Posteriormente foi feita uma lavagem com solução salina tamponada com fosfato.

As amostras finais foram submetidas a análise por citometria de fluxo, para contagem das EPC's circulantes, através de um citómetro FACSCanto II (BD Biosciences), utilizando o programa de software Infinicyt 1.4 (Cytognos, Salamanca, Spain). A identificação das EPC's foi

realizada através da estratégia de gates sequenciais do protocolo ISHAGE (International Society for Hematotherapy and Graft Engineering) modificado, proposto por Schmidt-Lucke et al (20).

As EPC's circulantes nas amostras foram identificadas através do perfil antigénico de superfície, considerando a presença de, no mínimo, um marcador de imaturidade celular (CD34 e/ou CD133) e um marcador de compromisso endotelial (VEGF-R2). A utilização da marcação com anticorpo CD45 permitiu a diferenciação entre leucócitos e as verdadeiras EPC's. Foi ainda avaliada a percentagem de células que coexpressavam o marcador CXCR4, devido à importância deste recetor do SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) na migração transendotelial das células progenitoras e na sua adesão ao endotélio lesado. O número de eventos adquiridos foi aumentado para 1.000.000, devido à baixa prevalência de EPC's circulantes no sangue periférico.

Este protocolo permitiu estudar as seguintes populações de células progenitoras: células CD45dimCD133+KDR+, células CD45dimCD34+KDR+, a subpopulação triplamente positiva CD45dimCD133+CD34+KDR+, e a subpopulação CD45dimCD34+KDR+CXCR4+.

### **Seguimento clínico**

Os doentes foram avaliados 6 meses após a implantação do sistema de ressincronização cardíaca, relativamente aos parâmetros clínicos, analíticos e ecocardiográficos anteriormente descritos.

Os indivíduos classificados como “respondedores” à TRC foram aqueles que se encontravam vivos, sem necessidade de transplante ou registo de internamentos por descompensação da IC e com uma redução do volume telessistólico do ventrículo esquerdo (VTSVE)  $\geq 15\%$ , aquando do *follow-up*.

### **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada através do programa informático SPSS 21 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste de Kolmogorov-Smirnov (para avaliação da normalidade da distribuição) e os resultados apresentados sob a forma de média  $\pm$  desvio-padrão, no caso dos dados paramétricos, e sob a forma de mediana  $\pm$  intervalo interquartil, para dados não paramétricos. Foi utilizado o teste-t de Student para comparação de variáveis com distribuição normal e o teste Mann-Whitney para variáveis cuja distribuição não era normal.

As variáveis qualitativas foram comparadas através do teste  $\chi^2$  (*Qui-quadrado*) ou com o teste exato de Fisher, conforme apropriado, e apresentadas sob a forma de percentagem ou frequência absoluta.

Para determinar a eficácia da TRC foram comparados os parâmetros obtidos na avaliação inicial e no *follow-up*, utilizado o teste-t de Student e o teste de McNemar nas variáveis quantitativas e qualitativas, respetivamente.

Um valor  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## **RESULTADOS**

### **Caracterização geral da população**

A Tabela 1 apresenta as características gerais da população em estudo e a comparação das variáveis clínicas entre doentes com miocardiopatia isquémica e não isquémica. O sexo masculino foi predominante (65%), sendo a média de idades de  $61,8 \pm 10,3$  anos. A etiologia isquémica identificou-se em apenas 23,3% dos doentes incluídos no estudo.

A maioria dos doentes encontrava-se em classe III da New York Heart Association (NYHA) (73,7%), com 15,8% do total em classe II e 10,5% em classe IV em ambulatório. A média da FEVE era de  $23,5 \pm 6,5\%$  ( $p < 0,05$ ).

Encontravam-se no estudo alguns doentes diabéticos (22%), com hipertensão arterial (43,1%), insuficiência renal crónica (20,3%) e dislipidémia (50%), esta última condição significativamente mais prevalente nos doentes com etiologia isquémica.

Relativamente à medicação habitual, 70% dos doentes estavam sob inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA's), 83,3% sob bloqueadores adrenérgicos beta (BB), 53,3% sob estatinas, 45% sob aspirina (AAS), 56,7% sob espironolactona, 98,3% sob furosemida, 40% sob digoxina e apenas 16,7% sob ivabradina. Os doentes com MCP não isquémica encontravam-se mais frequentemente medicados com espironolactona. Tal como seria de esperar, a proporção de doentes tratados com estatinas e AAS era significativamente superior no grupo de doentes com etiologia isquémica.

**Tabela 1 – Comparação das características basais entre doentes com etiologia isquémica e não isquémica**

	População global (N = 60)	MCP Isquémica (N = 14)	MCP Não Isquémica (N = 46)	Valor P
<b>Idade (anos) <sup>a</sup></b>	61,8 ± 10,3	61,6 ± 8,8	61,8 ± 10,8	0,960
<b><u>Sexo masculino</u> (%)</b>	65,0	100,0	54,3	<b><u>0,001</u></b>
<b>Anos de evolução da IC <sup>a</sup></b>	6,2 ± 6,6	9,2 ± 7,9	6,3 ± 5,9	0,160
<b>NYHA</b>	3,0 ± 0,5	2,9 ± 0,3	3,0 ± 0,6	0,295
<b><u>FC (bpm) <sup>a</sup></u></b>	69,2 ± 15,0	58,8 ± 9,4	72,1 ± 15,1	<b><u>0,011</u></b>
<b><u>QRS (ms) <sup>a</sup></u></b>	144,4 ± 27,5	134,6 ± 19,8	147,8 ± 29,2	0,137
<b>Diabetes (%)</b>	22,0	35,7	17,8	0,266
<b>IRC (%)</b>	20,3	14,3	22,2	0,712
<b>Hipertensão (%)</b>	43,1	64,3	36,4	0,120
<b><u>Dislipidémia</u> (%)</b>	50,0	78,6	41,3	<b><u>0,030</u></b>
<b>IECA (%)</b>	70,0	71,4	69,6	0,894
<b>BB (%)</b>	83,3	85,7	82,6	0,785
<b><u>Estatinas</u> (%)</b>	53,3	85,7	43,5	<b><u>0,006</u></b>
<b>ARA II (%)</b>	16,7	14,3	17,4	0,785
<b><u>AAS</u> (%)</b>	45,0	78,6	34,8	<b><u>0,006</u></b>
<b><u>Espironolactona</u> (%)</b>	56,7	28,6	65,2	<b><u>0,029</u></b>
<b>Furosemida (%)</b>	98,3	92,9	100,0	0,233
<b>Digoxina (%)</b>	40,0	28,6	43,5	0,368
<b>Ivabradina (%)</b>	16,7	14,3	17,4	0,785

Os resultados são apresentados como Média ± Desvio-Padrão (<sup>a</sup>) e como percentagens (%)

MCP – Miocardiopatia; IC – Insuficiência Cardíaca; FC – Frequência Cardíaca;

IRC – Insuficiência renal crónica; IECA – inibidores da enzima de conversão da angiotensina;

ARA – Antagonistas de recetores da angiotensina; AAS – Ácido Acetilsalicílico

Relativamente à comparação dos parâmetros ecocardiográficos e analíticos basais não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos (Tabela 2).

Em 86,8% dos doentes o sistema implantado incluiu CDI de *back-up* (CRT-D). Não houve diferenças estatisticamente significativas na proporção de doentes que receberam CRT-D versus CRT-P entre doentes com MCP isquémica e não isquémica (100% versus 82,5%, p=0,174, respetivamente).

**Tabela 2 – Comparação dos parâmetros laboratoriais e ecocardiográficos pré-implantação entre doentes com MCP isquêmica e não isquêmica**

	População global (N = 60)	MCP Isquêmica (N = 14)	MCP Não Isquêmica (N = 46)	Valor P
Hemoglobina (g/dl)	13,8 ± 1,5	13,4 ± 1,2	13,9 ± 1,6	0,280
Glicémia (mg/dl)	106,7 ± 35,6	116,4 ± 51,3	103,8 ± 29,5	0,267
Creatinina (mg/dl)	1,1 ± 0,6	1,2 ± 0,4	1,1 ± 0,7	0,622
Ácido úrico (mg/dl)	5,7 ± 1,6	6,3 ± 1,8	5,5 ± 1,5	0,231
Sódio (mEq/l)	138,3 ± 3,6	138,2 ± 2,6	138,3 ± 3,8	0,897
Potássio (mEq/l)	4,4 ± 0,5	4,2 ± 0,6	4,4 ± 0,4	0,135
ALT (U/l)	25,3 ± 16,6	20,0 ± 10,5	26,9 ± 17,9	0,192
AST (U/l)	27,2 ± 11,8	24,2 ± 11,0	28,1 ± 12,0	0,300
<u>GGT (U/l)</u>	64,8 ± 69,2	99,9 ± 94,0	54,0 ± 56,6	<b>0,035</b>
Colesterol total (mg/dL)	190,1 ± 55,6	161,4 ± 28,0	198,8 ± 59,1	0,061
Colesterol-HDL (mg/dL)	47,1 ± 13,5	41,1 ± 6,6	48,9 ± 14,6	0,113
Colesterol-LDL (mg/dL)	119,7 ± 38,9	114,3 ± 28,0	122,2 ± 43,9	0,693
Triglicédeos (mg/dL)	118,3 ± 55,8	137,1 ± 63,7	113,2 ± 53,4	0,259
PCR (mg/dl)	0,5 ± 0,8	0,9 ± 1,3	0,4 ± 0,5	0,053
BNP (pg/ml)	468,5 ± 496,7	447,7 ± 389,8	474,3 ± 527,3	0,883
CRT-P vs CRT-D (%)	13,2 / 86,8	0,0 / 100,0	17,5 / 82,5	0,174
AE (mm)	46,0 ± 7,9	43,6 ± 6,3	46,9 ± 8,4	0,329
Área AE (cm <sup>2</sup> )	27,9 ± 5,6	26,1 ± 7,2	28,3 ± 5,2	0,372
Volume AE (ml)	112,0 ± 33,2	100,9 ± 32,0	115,9 ± 33,6	0,312
VTDVE (ml)	242,2 ± 86,9	216,3 ± 47,0	250,8 ± 95,5	0,218
VTSVE (ml)	189,5 ± 81,9	155,1 ± 37,7	201,0 ± 89,5	0,080
<u>FEVE (%)</u>	23,5 ± 6,5	27,1 ± 5,8	22,4 ± 6,4	<b>0,018</b>
Dessinc Interv. (ms)	36,1 ± 33,6	29,4 ± 32,5	38,0 ± 34,1	0,457
Dessinc Intrav. (ms)	187,7 ± 60,8	191,5 ± 78,6	186,6 ± 55,4	0,819
Índice Yu	63,8 ± 20,8	59,7 ± 18,4	65,1 ± 21,7	0,462
PSAP (mmHg)	36,32 ± 20,9	38,6 ± 30,1	35,4 ± 16,3	0,668

Os resultados são apresentados como Média ± Desvio-Padrão

MCP – Miocardiopatia; PCR – proteína C reativa; BNP – peptídeo natriurético cerebral;

ALT – Alanina aminotransferase; AST – Aspartato aminotransferase; GGT – gamaglutamiltransferase;

CRT-D – terapêutica de ressincronização cardíaca – desfibrilhador;

CRT-P – terapêutica de ressincronização cardíaca – pacemaker;

AE – aurícula esquerda; VTDVE – Volume telediastólico do ventrículo esquerdo;

VTSVE – Volume telessistólico do ventrículo esquerdo; FEVE – Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo;

Dessinc Interv. – Dessincronia Interventricular; Dessinc Intrav. – Dessincronia Intraventricular;

PSAP – pressão sistólica na artéria pulmonar



### Níveis de EPC's circulantes basais em função da etiologia da miocardiopatia

As células progenitoras hematopoiéticas (CD34+) circulavam em maior quantidade nos doentes com miocardiopatia de causa não isquémica, comparativamente com os doentes com etiologia isquémica (Tabela 3).

Os grupos celulares (CD45dimCD34+KDR+; CD45dimCD34+KDR+CD133+; CD45dimCD34+KDR+CXCR4+ e CD45dimCD133+KDR+) e a sua distribuição de acordo com as duas etiologias em estudo estão representadas na Tabela 3 e no Gráfico 1. Verificou-se uma tendência para maiores níveis de EPC's CD45dimCD34+KDR+ na circulação dos doentes com MCP não isquémica comparativamente com os doentes com MCP isquémica ( $2,40 \pm 4,46\%$  versus  $0,90 \pm 0,34\%$ ;  $p=0,110$ ) e níveis de EPC's CD45dimCD133+KDR+ significativamente superiores nos não isquémicos ( $0,78 \pm 0,63\%$  versus  $0,16 \pm 0,11\%$ ;  $p= 0,040$ ). Não verificámos diferenças estatisticamente significativas nos níveis de EPC's positivas para o recetor de *homing* CXCR4, nem nos níveis de EPC's mais imaturas CD45dimCD34+KDR+CD133+ em função da etiologia da MCP.

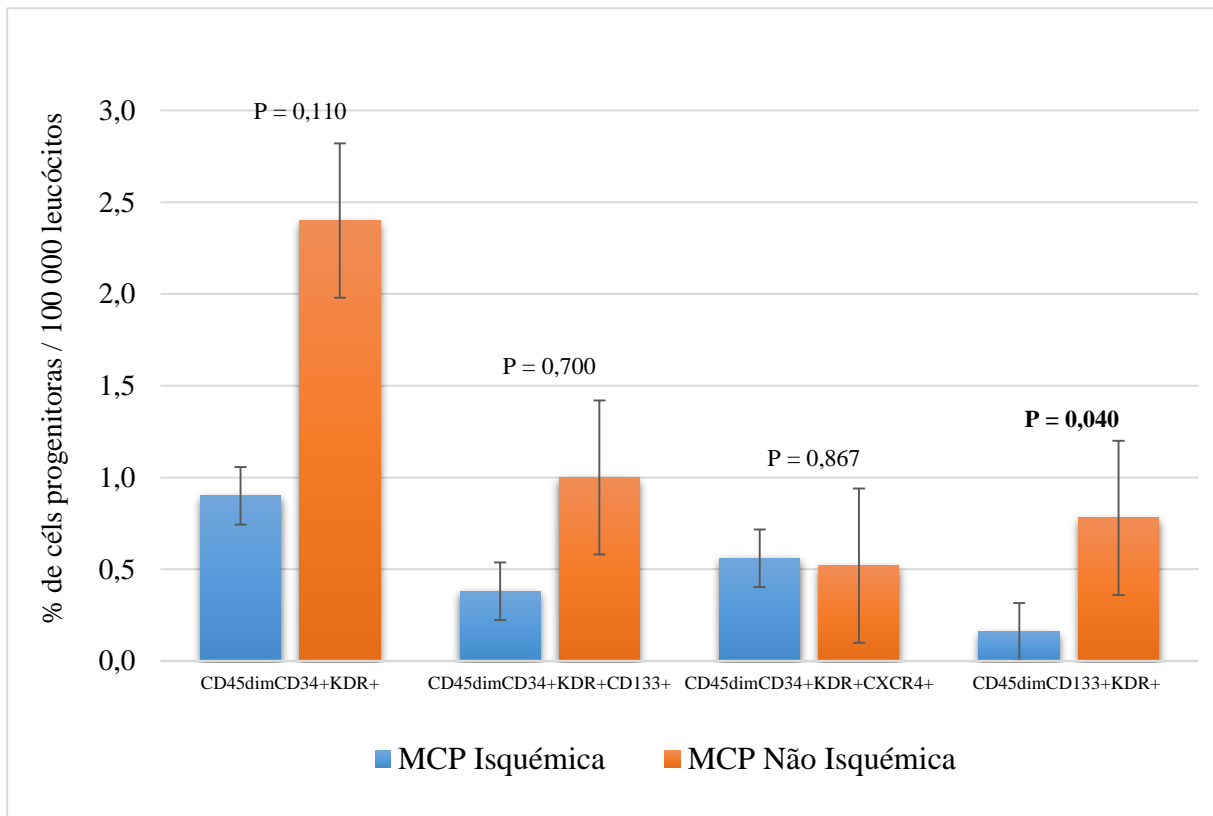
**Tabela 3 – Comparação dos níveis de EPC's circulantes basais entre doentes com MCP isquémica e não isquémica**

	MCP Isquémica	MCP não isquémica	Valor P
<b>CD34+</b>	$37,54 \pm 13,07\%$	$49,28 \pm 34,06\%$	0,459
<b>CD45dimCD34+KDR+</b>	$0,90 \pm 0,34\%$	$2,40 \pm 4,46\%$	0,110
<b>CD45dimCD34+KDR+CD133+</b>	$0,38 \pm 0,37\%$	$1,00 \pm 3,50\%$	0,700
<b>CD45dimCD34+KDR+CXCR4+</b>	$0,56 \pm 0,42\%$	$0,52 \pm 0,55\%$	0,867
<b><u>CD45dimCD133+KDR+</u></b>	$0,16 \pm 0,11\%$	$0,78 \pm 0,63\%$	<b><u>0,040</u></b>

Os resultados são apresentados como Média  $\pm$  Desvio-Padrão

MCP – Miocardiopatia

**Gráfico 1 – Níveis de EPC's de acordo com a etiologia da IC**



MCP – Miocardiopatia

### **Evolução durante o Follow-Up**

Seis meses após a implantação observámos que 32,6% dos doentes não responderam favoravelmente à terapêutica de ressincronização cardíaca. Como apresentado no Gráfico 2, no grupo de doentes com etiologia não isquémica a proporção de respondedores foi ligeiramente superior à do grupo dos doentes isquémicos, no entanto essa diferença não foi estatisticamente significativa (69,7 versus 60,0%,  $p=0,566$ ).

Verificou-se uma melhoria significativa da classe funcional NYHA, tanto no grupo de etiologia isquémica (de  $2,9 \pm 0,2$  para  $2,1 \pm 0,8$ ,  $p = 0,009$ ) como no de etiologia não isquémica (de  $3,0 \pm 0,6$  para  $2,1 \pm 0,9$ ,  $p < 0,001$ ), uma melhoria significativa da FEVE em ambos os grupos (de  $27,1 \pm 5,8$  para  $30,3 \pm 6,2\%$ ,  $p = 0,027$  nos isquémicos e de  $22,4 \pm 6,4$  para  $32,2 \pm 11,7\%$ ,  $p < 0,001$ , nos doentes não isquémicos), assim como uma tendência para diminuição dos valores

de BNP para cerca de metade dos obtidos no período pré-implantação (de  $447,7 \pm 389,8$  para  $217,9 \pm 162,3$  pg/ml,  $p = 0,221$  nos doentes com etiologia isquémica e de  $474,3 \pm 527,3$  para  $247,3 \pm 369,6$  pg/ml,  $p = 0,270$  nos doentes de etiologia não isquémica). (Tabela 4)

Relativamente a outros parâmetros laboratoriais avaliados aos 6 meses de seguimento clínico, também expressos na Tabela 4, não verificámos diferenças significativas entre os dois grupos etiológicos, à exceção da função renal que se tornou significativamente pior nos doentes com etiologia isquémica comparativamente com os não isquémicos, apesar dos valores de creatinina pré-implantação serem semelhantes. (Tabela 2)

**Tabela 4 – Evolução clínica e laboratorial após implantação**

	<b>MCP Isquémica</b>	<b>MCP Não Isquémica</b>	<b>Valor P</b>
<b>NYHA</b>	$2,1 \pm 0,8$	$2,1 \pm 0,9$	0,895
<b>PCR (mg/dl)</b>	$0,7 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,6$	0,235
<b>BNP (pg/ml)</b>	$217,9 \pm 162,3$	$247,3 \pm 369,6$	0,810
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	$1,4 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,3$	0,026
<b>Glicémia (mg/dl)</b>	$107,1 \pm 60,5$	$101,9 \pm 33,3$	0,711
<b>Hemoglobina (g/dl)</b>	$13,8 \pm 1,5$	$13,4 \pm 1,7$	0,468
<b>Ácido úrico (mg/dl)</b>	$5,6 \pm 1,3$	$6,1 \pm 1,4$	0,448
<b>Sódio (mEq/l)</b>	$138,5 \pm 2,0$	$138,5 \pm 3,3$	0,955
<b>Potássio (mEq/l)</b>	$4,4 \pm 0,7$	$4,5 \pm 0,4$	0,935
<b>ALT (U/l)</b>	$22,5 \pm 13,5$	$24,4 \pm 10,4$	0,617
<b>AST (U/l)</b>	$26,8 \pm 12,5$	$24,9 \pm 6,8$	0,509
<b>GGT (U/l)</b>	$109,9 \pm 138,6$	$51,8 \pm 62,8$	0,057

Os resultados são apresentados como Média  $\pm$  Desvio-Padrão

MCP – Miocardiopatia; NYHA – New York Heart Association;

PCR – proteína C reativa; BNP – peptídeo natriurético cerebral

ALT – Alanina aminotransferase; AST – Aspartato aminotransferase; GGT - gamaglutamiltransferase

Houve uma redução nos valores obtidos pós-implantação em vários parâmetros ecográficos como a PSAP, dessincronia interventricular, dessincronia intraventricular e Índice Yu. Não foi encontrada significância estatística na comparação destes parâmetros aos 6 meses de *follow-up* entre os 2 grupos etiológicos (Tabela 5).

**Tabela 5 – Comparação dos parâmetros ecocardiográficos no período pós-implantação**

	MCP Isquêmica	MCP Não Isquêmica	Valor P
<b>AE (mm)</b>	48,3 ± 8,3	44,2 ± 8,4	0,255
<b>Área AE (cm<sup>2</sup>)</b>	26,6 ± 8,7	27,5 ± 6,4	0,753
<b>Volume AE (ml)</b>	100,9 ± 50,7	108,2 ± 37,5	0,689
<b>FEVE (%)</b>	30,3 ± 6,2	32,2 ± 11,7	0,588
<b>VTDVE (ml)</b>	198,8 ± 68,4	212,7 ± 113,3	0,717
<b>VTSVE (ml)</b>	140,2 ± 61,5	155,1 ± 101,1	0,662
<b>PSAP (mmHg)</b>	32,9 ± 7,0	34,7 ± 16,9	0,754
<b>Dessinc. Intervent. (ms)</b>	10,7 ± 17,4	18,2 ± 28,8	0,425
<b>Dessinc. Intravent. (ms)</b>	161,6 ± 65,4	175,9 ± 51,2	0,460
<b>Índice Yu</b>	57,9 ± 20,1	60,1 ± 18,3	0,741

Os resultados são apresentados como Média ± Desvio-Padrão

MCP – Miocardiopatia; AE – aurícula esquerda; FEVE – Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo

VTDVE – Volume telediastólico do ventrículo esquerdo;

VTSVE – Volume telessistólico do ventrículo esquerdo;

Dessinc Interv. – Dessincronia Interventricular; Dessinc Intrav. – Dessincronia Intraventricular

PSAP – pressão sistólica na artéria pulmonar;

Ambos os grupos tiveram uma melhoria da FE ventricular durante o *follow-up*, verificando-se uma vantagem para o grupo da IC não isquêmica (aumento de 30%, vs. 11% no grupo isquêmico). A variação encontrada foi de 3,7 ± 5,3 no grupo de IC isquêmica e de 9,4 ± 10,8 no grupo de IC não isquêmica (p = 0,015) (Tabela 6).

O mesmo benefício foi encontrado quando comparados os volumes ventriculares: no grupo isquêmico houve uma redução do VTDVE de 8,1% (vs. 15,2% no grupo não isquêmico), assim como uma redução de 9,6% do VTSVE (vs. 22,8% no grupo não isquêmico). A redução absoluta de volume telessistólico foi de  $1,8 \pm 30,8$  ml no grupo de IC isquêmica e de  $44,4 \pm 71,1$  ml no grupo de IC não isquêmica ( $p = 0,015$ ).

**Tabela 6 – Variação dos parâmetros ecocardiográficos entre os períodos pré e pós-implantação**

	MCP Isquêmica	MCP Não Isquêmica	Valor P
<u><math>\Delta</math> AE (mm)</u>	- 5,9 $\pm$ 9,0	3,1 $\pm$ 10,0	<b><u>0,049</u></b>
<u><math>\Delta</math> FEVE (%)</u>	3,7 $\pm$ 5,3	9,4 $\pm$ 10,8	<b><u>0,015</u></b>
$\Delta$ VTDVE (ml)	5,0 $\pm$ 33,3	36,1 $\pm$ 68,3	0,072
<u><math>\Delta</math> VTSVE (ml)</u>	1,8 $\pm$ 30,8	44,4 $\pm$ 71,1	<b><u>0,015</u></b>
$\Delta$ PSAP (mmHg)	1,7 $\pm$ 22,9	-2,0 $\pm$ 8,9	0,648
$\Delta$ Dessinc. Intervent. (ms)	28,4 $\pm$ 31,6	25,0 $\pm$ 40,4	0,803
$\Delta$ Dessinc. Intravent. (ms)	21,1 $\pm$ 58,9	7,0 $\pm$ 80,6	0,591
$\Delta$ Índice Yu	4,6 $\pm$ 14,1	5,5 $\pm$ 31,8	0,915

Os resultados são apresentados como Média  $\pm$  Desvio-Padrão

MCP – Miocardiopatia; AE – aurícula esquerda; FEVE – Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo

VTDVE – Volume telediastólico do ventrículo esquerdo;

VTSVE – Volume telessistólico do ventrículo esquerdo;

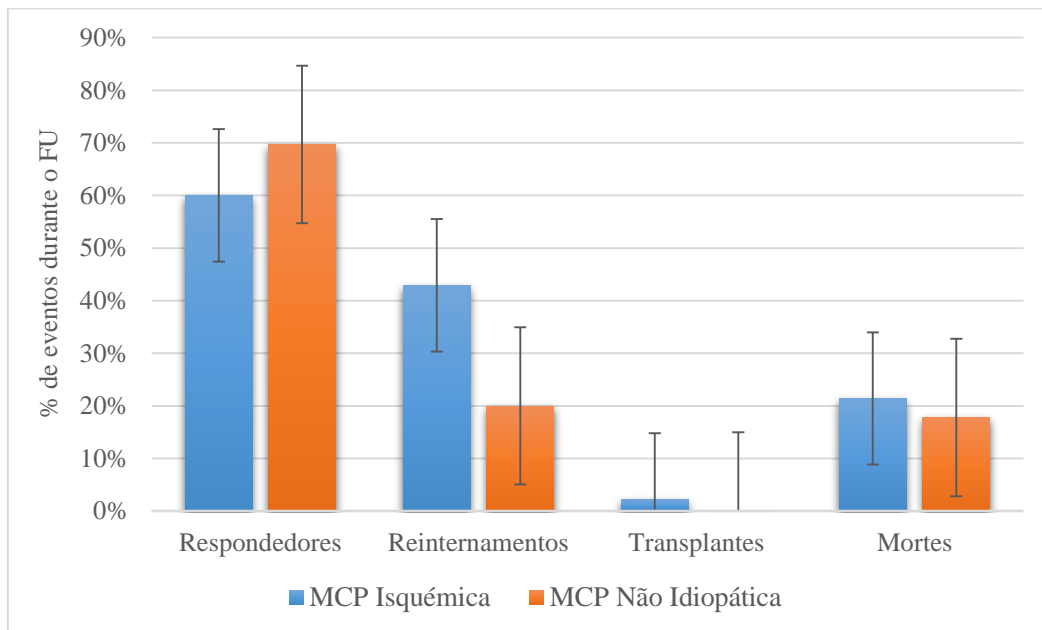
Dessinc Interv. – Dessincronia Interventricular; Dessinc Intrav. – Dessincronia Intraventricular

PSAP – pressão sistólica na artéria pulmonar;

Comparando a ocorrência de eventos durante o follow-up (Gráfico 2), os indivíduos com IC isquêmica parecem ter uma maior propensão para reinternamentos hospitalares por IC descompensada após a TRC do que os doentes com IC não isquêmica (42,9% vs. 20%,  $p=0,086$ ). No

entanto, não houve diferenças estatisticamente significativas na ocorrência de morte cardiovascular ou transplante cardíaco durante este período entre o grupo isquêmico e o não isquêmico (21,4% vs. 17,8%,  $p = 0,759$  e 0 vs. 2,2%,  $p = 0,578$ , respectivamente).

**Gráfico 2 – Registro de eventos durante o Follow-Up**



FU – Follow Up; MCP – Miocardiopatia

## **DISCUSSÃO**

Cerca de 1-2% da população adulta em países desenvolvidos sofre de IC, sendo a etiologia mais comum a doença cardíaca isquêmica. Causas não-isquêmicas incluem a miocardiopatia não isquêmica dilatada (que engloba um conjunto de doenças do miocárdio de causa desconhecida), hipertensão, doenças valvulares, fibrilhação auricular, entre outras (21).

Embora cada etiologia possua mecanismos fisiopatológicos diferentes, todas provocam alterações moleculares, bioquímicas, estruturais e mecânicas do músculo cardíaco, numa remodelação ventricular que atua como resposta “fisiológica” à lesão persistente (22). O processo ativa diversos mecanismos de compensação, entre os quais a estimulação do sistema nervoso simpático, ativação do sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona e a vasorregulação local (com disfunção endotelial), na tentativa de manter uma perfusão adequada dos tecidos (23). Estas alterações resultam em reorganização dos miócitos e transformação da configuração geométrica cardíaca, que se torna mais esférica. Ocorre um aumento progressivo dos volumes telediastólico e telessistólico, diminuição da espessura da parede muscular e uma consequente diminuição na força de ejeção. Embora inicialmente este mecanismo possa ser benéfico na manutenção da função cardíaca, rapidamente condiciona a evolução clínica desfavorável e o agravamento da IC.

Vários estudos (12–14,17,24–27) têm demonstrado a eficácia da TRC em contrariar a remodelação ventricular e, através da recuperação da contractilidade muscular síncrona, melhorar a função cardíaca e a qualidade de vida dos doentes submetidos a esta terapêutica.

Neste estudo verificámos uma boa resposta clínica à TRC tanto nos doentes com etiologia não isquêmica como nos isquêmicos, com uma proporção de respondedores semelhante nos 2 grupos etiológicos. No entanto, os doentes não isquêmicos apresentaram uma melhoria significativamente superior da geometria e função ventricular esquerda.

A terapêutica médica otimizada para a população em estudo encontra algumas diferenças relativamente à miocardiopatia subjacente. No grupo dos doentes com IC isquémica é notória a predominância do uso de estatinas e AAS, comparativamente ao grupo da miocardiopatia não-isquémica. Este grupo de doentes apresenta também mais fatores de risco cardiovasculares como Diabetes Mellitus, Hipertensão Arterial e Dislipidémia. Estes resultados são expectáveis se tivermos em conta que estas características são comuns à maioria dos doentes com doença arterial coronária, que a longo prazo pode ser uma causa importante de IC isquémica.

### **Comparação da resposta à TRC em função da etiologia da IC**

Tal como descrito na literatura (12), também neste trabalho, verificámos que cerca de 30% dos indivíduos submetidos a TRC não tiveram uma resposta favorável. Existiu no entanto uma ligeira vantagem para os doentes com IC de etiologia não isquémica (com maior redução dos volumes ventriculares e uma melhoria significativamente superior na FEVE).

Em concordância com os resultados apresentados, Díaz-Infante et al. (28) verificaram, no seu estudo de 143 doentes, que existe uma tendência para a etiologia isquémica ter uma pior resposta à TRC. Pensa-se que este efeito se deva ao mecanismo que causa a dessincronia da contração cardíaca nas duas etiologias. Enquanto na miocardiopatia não isquémica a dessincronia do VE está frequentemente associada a um bloqueio de ramo ou a uma alteração na rede de Purkinje, os doentes com patologia isquémica devem a sua dessincronia a disfunções segmentares do movimento da parede ventricular, causadas pelas cicatrizes ou defeitos de perfusão do miocárdio. Sendo mais fácil a correção mecânica de atrasos da condução comparativamente a anormalidades muito localizadas da parede, estes fatores poderão estar na origem das diferentes respostas à estimulação biventricular (29,30).

Doentes com miocardiopatia isquémica sofrerão também, em teoria, uma remodelação inversa ventricular menos pronunciada com a TRC, devido à existência de menor número de



cardiomiócitos viáveis (19,31). O processo de recuperação miocárdica pós-implantação é dificultado uma vez que menos células musculares estão disponíveis para retornarem à sua forma e função original, ao contrário do que sucede nos casos de miocardiopatia de causa não isquêmica.

Daya et al. (32) demonstraram a importância da localização dos elétrodos de pacing nos doentes com MCP isquêmica. A estimulação elétrica numa área cicatricial extensa diminui a eficácia da terapêutica de ressincronização, impedindo a condução útil da corrente de forma homogênea pelo miocárdio. A colocação dos elétrodos em locais com viabilidade muscular poderá ser uma forma de diminuir as diferenças de resposta entre a etiologia isquêmica e não-isquêmica e melhorar os resultados a longo prazo (33).

Contrariamente a estes resultados, vários estudos (18,19,31,34) realizados nos últimos anos verificaram que os benefícios da TRC parecem ser semelhantes na insuficiência cardíaca, independentemente da causa subjacente.

Perante resultados tão díspares e a ausência de evidência sólida que favoreça a etiologia como preditor independente de resposta à TRC, a causa da miocardiopatia não deve ser uma condicionante na decisão de implantar um dispositivo de ressincronização cardíaca num doente com insuficiência cardíaca avançada.

### **Níveis de EPC's circulantes pré-TRC em função da etiologia da IC**

Muitos são os autores que defendem o papel benéfico das EPC's na insuficiência cardíaca. Quando ocorre lesão endotelial ou há sinais de isquemia, diversos mediadores, como o VEGF, SDF-1 ou NOS (Nitric Oxide Synthase), iniciam uma cascata ativadora da metaloproteinase-9 da matriz (MMP-9) que estimula a proliferação das EPC's na medula óssea e consequente libertação na corrente sanguínea, num processo ainda não totalmente esclarecido (6–8,35,36). As

células circulantes aderem depois aos vasos lesados, desempenhando o seu papel na reparação vascular.

Neste estudo, os níveis de EPC's mais imaturas (CD45dimCD34+KDR+CD133+ e CD45dimCD133+KDR+) eram superiores na circulação periférica dos doentes com miocardiopatia não isquémica, sendo esta última população a única a apresentar diferenças estatisticamente relevantes.

Valgimigli et al. (37) foram o primeiro grupo a demonstrar a existência de uma relação inversa entre os níveis circulantes das EPC's e a classe funcional NYHA. Verificaram que as células CD34+ e CD34+KDR+CD133+ apresentavam valores elevados nas classes I e II, enquanto que nas classes mais avançadas de IC se encontravam níveis circulantes muito baixos. Nos estadios iniciais da doença, a medula óssea funcionante parece reagir às agressões com a libertação das EPC's de modo a recuperar o dano endotelial sofrido. Nas fases mais avançadas, o efeito crónico da doença resulta na circulação de níveis elevados de TNF- $\alpha$ , que atua como um supressor da hematopoiese. Parece ocorrer assim um processo de exaustão medular, no qual o organismo deixa de ser capaz de reagir às agressões endoteliais.

As evidências relatadas por Valgimigli et al. foram mais tarde reforçadas por outros investigadores (9,16,38,39). Estes grupos não registaram qualquer relação deste processo com a etiologia da IC. No entanto, um estudo realizado por Theiss et al. (40) em 2007 obteve resultados diferentes. Os autores demonstraram uma tendência para níveis mais elevados de EPC's em doentes com IC de causa não isquémica, comparativamente os de causa isquémica, tal como observado no presente trabalho. Verificou-se que estas diferenças se deviam ao aumento das citocinas de estimulação medular (como o SDF-1) no grupo com IC não-isquémica.

Foi colocada a hipótese de que a medicação com estatinas e a idade dos doentes poderiam ser também fatores de interferência. Enquanto que Theiss et al. (40) não obtiveram significância estatística, outros autores demonstraram existir alguma influência destes parâmetros nos níveis

das células circulantes: Fritzenwanger et al. (41), em 2009, verificaram que o número de EPC's diminuía inversamente com a idade dos doentes, e Oikonomou et al. (42), já em 2015, demonstraram que a terapêutica com estatinas potenciava a mobilização das EPC's em doentes com IC isquémica. Estes resultados indicam que as diferenças nos níveis celulares poderão na verdade ser ainda mais acentuadas, sendo necessária a realização de mais estudos direcionados para essa problemática.

É de salientar que no presente estudo, apesar da notória predominância do uso de estatinas no grupo dos doentes com IC isquémica, esse reconhecido estímulo farmacológico à mobilização de EPC's a partir da medula óssea não foi suficiente para que os níveis de EPC's circulantes atingissem os níveis dos doentes não isquémicos.

A TRC parece ter também um papel importante na mobilização das EPC's na insuficiência cardíaca. Foi documentado que as células CD34+ endoteliais-like são capazes de aderir e colonizar a superfície de titânio dos dispositivos de ressincronização, contribuindo para o processo de remodelação inversa. Por outro lado, estudos recentes (15,16) sugerem que as EPC's circulantes podem ser importantes para a resposta à TRC, verificando que as EPC's se encontram aumentadas nos doentes que respondem favoravelmente à TRC, sendo o benefício tanto maior quanto mais altos os níveis circulantes.

### **Evolução clínica**

Verificou-se no presente estudo que ambos os grupos etiológicos melhoravam a sua condição clínica após TRC, o que foi comprovado pelos resultados analíticos durante o *follow-up*. A classificação NYHA reduziu-se em pelo menos uma classe nos dois grupos, sem que houvesse diferenças significativas entre eles. Uma meta-análise de 2013 (43) concluiu que os doentes com IC não isquémica apresentam normalmente uma redução mais acentuada na classe NYHA,

sem que isso interfira no entanto com a qualidade de vida ou com a mortalidade a 1 ano após terapêutica de ressincronização.

Durante os 6 meses de *follow up*, verificámos que os doentes com etiologia isquémica apresentavam uma tendência para maior número de reinternamentos por eventos cardiovasculares ou agravamento da IC, bem como uma taxa de mortalidade ligeiramente superior. Estas diferenças poderão ser explicadas pelo pior prognóstico geralmente associado às doenças isquémicas, comparativamente às causas não isquémicas ou eventualmente pela pior resposta à TRC em termos de remodelagem ventricular inversa nos doentes isquémicos (19,32).

No entanto, em trabalhos prévios não foram observadas diferenças significativas na mortalidade em função da etiologia da miocardiopatia (22,31,43).

### **Evolução ecocardiográfica**

Quando comparados os parâmetros ecocardiográficos confirmámos a eficácia da TRC na remodelação inversa do miocárdio, mas com um benefício substancialmente superior nos doentes com etiologia não isquémica.

### **Dessincronias ventriculares**

A remodelação cardíaca, que cursa com a alteração dos cardiomiócitos e da matriz de colágeno, resulta muitas vezes em atrasos na condução e alterações da contractilidade, com a contração desigual de diferentes zonas do miocárdio (dessincronia intraventricular). Esta disfunção ocorre sob a forma de bloqueio completo de ramo esquerdo, levando o septo interventricular a contrair precocemente e a um conseqüente prolongamento de tempo até à contração das paredes livres do VE. Deste modo, a sístole ventricular esquerda surge atrasada relativamente à sístole

direita (dessincronia interventricular). A longo prazo, a dessincronia conduz a uma função sistólica ventricular esquerda anormal, com aumento do volume telessistólico, da tensão parietal e redução do tempo de relaxamento ventricular.

Yu et al. (26) definiram a diminuição da dessincronia sistólica com o principal objectivo da TRC, verificando que este parâmetro melhorava consideravelmente nos doentes submetidos a esta terapêutica. Os mesmos autores (44) consideram a dessincronia intraventricular como preditor da resposta positiva à TRC, associando a sua diminuição a uma remodelação inversa acentuada.

Neste estudo, quando comparada a dessincronia pré e pós implantação, verificamos que existe uma clara diminuição dos tempos de atraso de contração, independentemente da etiologia subjacente. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Wikstrom et al. (19), que num estudo com cerca de 800 doentes demonstraram não haver diferenças no grau de dessincronia interventricular nas duas etiologias.

#### Geometria e função sistólica ventricular esquerda

A fração de ejeção é fundamental na avaliação da resposta à terapêutica de ressincronização, sendo um fator prognóstico bem estabelecido na IC e por si só um critério indispensável na avaliação da indicação para TRC (considerando elegíveis doentes com FEVE  $\leq 35\%$ ) (45).

Neste estudo, ambos os grupos etiológicos tiveram uma melhoria da FEVE durante o follow-up, existindo no entanto um aumento significativamente superior nos doentes com IC não isquémica. Estes resultados coadunam-se com os obtidos por Gasparini et al. (29), Yanmei et al. (31) e com vários outros autores (43).

Tal como descrito anteriormente, esta tendência pode dever-se ao grau de cicatrização do miocárdio nos doentes com IC isquémica, com áreas inviáveis que o tornam incapaz de recuperar a função sistólica e, conseqüentemente, a fração de ejeção.

Yu *et al.* (24) foram o primeiro grupo a demonstrar que a TRC provoca remodelação inversa, ao verificarem uma diminuição do VTSVE e VTDVE alguns meses depois da implantação, situação que se mantinha mesmo quando o dispositivo era temporariamente removido.

Neste estudo verificámos que os doentes com miocardiopatia não isquémica obtêm maior diminuição de volumes ao longo do tempo do que os doentes de etiologia isquémica. Estes dados são apoiados por outros autores (31,46).

Vidal *et al.* (47) não detetaram diferenças entre a etiologia isquémica e não isquémica, apesar dos doentes com miocardiopatia não isquémica terem volumes ventriculares superiores pré-procedimento.

Resultados do estudo randomizado MIRACLE (18) observaram uma diferença interessante entre etiologias aos 6 e aos 12 meses de follow-up pós-implantação. Os autores verificaram que os dois grupos etiológicos melhoraram os seus volumes ventriculares ao fim de 6 meses, enquanto que aos 12 meses de seguimento o grupo de miocardiopatia isquémica viu os seus volumes regressarem quase aos valores pré-implantação.

## **LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

A amostra de doentes incluídos neste estudo é bastante pequena, o que condiciona os resultados obtidos. Os grupos isquémico e não-isquémico apresentam algumas diferenças de características basais, incluído não só o facto de o número de indivíduos com etiologia não isquémica ser superior, mas também fatores como o sexo, a medicação administrada e as comorbilidades que podem ter alguma influência nos resultados. Não foram incluídos no estudo doentes em classe I da NYHA.

## **CONCLUSÃO**

Concluimos que a etiologia subjacente à miocardiopatia pode ser um indicador do grau de remodelação inversa conseguido pela TRC e que a melhor resposta à terapêutica pode ser justificada pelos maiores níveis de EPC's circulantes nos doentes com etiologia não isquémica. No entanto, doentes com miocardiopatia isquémica não devem ser excluídos da possibilidade de implantar um sistema de ressincronização cardíaca, uma vez que os benefícios foram bem demonstrados para ambas as etiologias.

## **AGRADECIMENTOS**

Este espaço é dedicado àqueles que, de alguma maneira, ajudaram à realização deste projeto. A todos eles, e a muitos outros que ficam por mencionar, o meu muito obrigado.

Ao Professor Doutor Lino Gonçalves, pela honra e privilégio que tive em trabalhar sob a sua supervisão durante este Mestrado e por ser uma inspiração a nível científico e académico.

À Professora Doutora Natália António, por toda a amizade e conselhos que foram essenciais nesta tese. Reconheço não só a confiança que em mim depositou mas também a responsabilidade que me incutiu em todas as fases do projeto e que contribuiu para a minha grande satisfação em participar neste trabalho.

Ao Secretariado de Ecocardiografia dos HUC, em especial à Dona Sónia, pela simpatia, paciência e colaboração prestadas.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, de hoje e de sempre. Por me incentivarem a caminhar em frente com confiança, mesmo perante as dificuldades e a frustração. Por acreditarem.

Ao meu irmão “cientista”, pela ajuda experiente e por todas as dicas fundamentais, pela sua paciência e tempo perdido com as minhas dúvidas. Pela imensa segurança que sempre transmitiu e que me manteve confiante.

Ao João, pelo carinho diário e pela motivação constante. A todos os que comigo cresceram ao longo destes 6 anos, profissional e emocionalmente.

A todos os meus avós, por todo o amor e orgulho naquilo que sou e naquilo que faço. Um obrigado especial ao meu avô Luís, a quem dedico este trabalho, pela sua força, determinação e enorme generosidade que só os grandes corações possuem.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Khoo CP, Pozzilli P, Alison MR. Endothelial progenitor cells and their potential therapeutic applications. *Regen Med.* 2008; 3:863–76.
2. 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.* 1997;275(5302):964–7.
3. 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.
4. Kocher a a, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med.* 2001;7(4):430–6.
5. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med.* 2005;353(10):999–1007.
6. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: Mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(7):1185–9.
7. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. *J Cell Mol Med.* 2004;8(4):498–508.
8. Khakoo AY, Finkel T. Endothelial progenitor cells. *Annu Rev Med.* 2005;56(4):79–101.
9. Nonaka-Sarukawa M, Yamamoto K, Aoki H, Nishimura Y, Tomizawa H, Ichida M, et al. Circulating endothelial progenitor cells in congestive heart failure. *Int J Cardiol.* 2007;119(3):344–8.
10. Fischer D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B, et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *Eur Heart J.* 2005;26(1):65–9.
11. Pieske B. Reverse remodeling in heart failure ? fact or fiction? *Eur Hear J Suppl.* 2004;6:D66–78.
12. Abraham WT, Fisher WG, Smith AL. Cardiac Resynchronization In Chronic Heart Failure. *N Engl J Med.* 2002;346(24):1845–53.
13. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein HU. Cardiac-Resynchronization Therapy for the Prevention of Heart-Failure Events. *N Engl J Med.* 2009;361(14):1329–38.
14. Cleland JGF, Daubert J-C, Erdmann E, Freemantle N, Gras D, Kappenberger L, et al. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med.* 2005;352(15):1539–49.

15. Manginas A, Tsiavou A, Sfyraakis P, Giamouzis G, Tsourelis L, Leontiadis E, et al. Increased Number of Circulating Progenitor Cells After Implantation of Ventricular Assist Devices. *J Hear Lung Transplant*. 2009;28(7):710–7.
16. António N, Soares A, Carvalheiro T, Fernandes R, Paiva A, Ventura M, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells as a Predictor of Response to Cardiac Resynchronization Therapy: The Missing Piece of the Puzzle? *Pacing Clin Electrophysiol*. 2014;37(6):731–9.
17. Bax JJ, Abraham T, Barold SS, Breithardt O a, Fung JWH, Garrigue S, et al. Cardiac resynchronization therapy: Part 1--issues before device implantation. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(12):2153–67.
18. St John Sutton MG, Plappert T, Hilpisch KE, Abraham WT, Hayes DL, Chinchoy E. Sustained reverse left ventricular structural remodeling with cardiac resynchronization at one year is a function of etiology: Quantitative Doppler echocardiographic evidence from the Multicenter InSync Randomized Clinical Evaluation (MIRACLE). *Circulation*. 2006;113(2):266–72.
19. Wikstrom G, Blomström-Lundqvist C, Andren B, Lönnerholm S, Blomström P, Freemantle N, et al. The effects of aetiology on outcome in patients treated with cardiac resynchronization therapy in the CARE-HF trial. *Eur Heart J*. 2009;30(7):782–8.
20. Schmidt-Lucke C, Fichtlscherer S, Aicher A, Tschöpe C, Schultheiss HP, Zeiher AM, et al. Quantification of circulating endothelial progenitor cells using the modified ISHAGE Protocol. *PLoS One*. 2010;5(11):1–7.
21. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007;93(9):1137–46.
22. Santini L, Capria A, Di Molfetta A, Mahfouz K, Panattoni G, Minni V, et al. Endothelial dysfunction is a marker of systemic response to the cardiac resynchronization therapy in heart failure. *J Card Fail*; 2013;19(6):419–25.
23. Seixas-Cambão M, Feite-Moreira AF. Fisiopatologia da Insuficiência Cardíaca Crónica. *Rev Port Cardiol*. 2009; 28(4):439–71.
24. Yu C-M, Chau E, Sanderson JE, Fan K, Tang M-O, Fung W-H, et al. Tissue doppler echocardiographic evidence of reserve remodeling and improved synchronicity by simultaneously delaying regional contraction after biventricular pacing therapy in heart failure. *Circulation*. 2002;105(4):438–45.
25. Ambardekar A V., Buttrick PM. Reverse remodeling with left ventricular assist devices a review of clinical, cellular, and molecular effects. *Circ Hear Fail*. 2011;4(2):224–33.
26. Yu C-M, Fung W-H, Lin H, Zhang Q, Sanderson JE, Lau C-P. Predictors of left ventricular reverse remodeling after cardiac resynchronization therapy for heart failure secondary to idiopathic dilated or ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2003;91(6):684–8.

27. Cazeau S, Leclercq C, Lavergne T, Walker S. Effects of Multisite Biventricular Pacing in Patients With Heart Failure and Intraventricular Conduction Delay. *N Engl J Med*. 2001;344(12):873–80.
28. Díaz-Infante E, Mont L, Leal J, García-Bolao I, Fernández-Lozano I, Hernández-Madrid A, et al. Predictors of lack of response to resynchronization therapy. *Am J Cardiol*. 2005;95(12):1436–40.
29. Gasparini M, Mantica M, Galimberti P, Genovese L, Pini D, Faletra F, et al. Is the outcome of cardiac resynchronization therapy related to the underlying etiology? *Pacing Clin Electrophysiol*. 2003;26:175–80.
30. Adelstein EC, Saba S. Baseline scintigraphic abnormalities by myocardial perfusion imaging predict echocardiographic response to cardiac resynchronization therapy in nonischemic cardiomyopathy. *Clin Cardiol*. 2008;31(5):217–24.
31. Chen Y, Duan C, Liu F, Shen S, Chen P, Bin J. Impact of etiology on the outcomes in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy: A meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(4).
32. Abu Daya H, Alam MB, Adelstein E, Schwartzman D, Jain S, Marek J, et al. Echocardiography-guided left ventricular lead placement for cardiac resynchronization therapy in ischemic vs nonischemic cardiomyopathy patients. *Hear Rhythm*; 2014;11(4):614–9.
33. Delgado V, Van Bommel RJ, Bertini M, Borleffs CJW, Marsan NA, Ng ACT, et al. Relative merits of left ventricular dyssynchrony, left ventricular lead position, and myocardial scar to predict long-term survival of ischemic heart failure patients undergoing cardiac resynchronization therapy. *Circulation*. 2011;123(1):70–8.
34. Molhoek SG, Bax JJ, van Erven L, Bootsma M, Boersma E, Steendijk P, et al. Comparison of benefits from cardiac resynchronization therapy in patients with ischemic cardiomyopathy versus idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2004;93(7):860–3.
35. Szmitko PE, Fedak PWM, Weisel RD, Stewart DJ, Kutryk MJB, Verma S. Endothelial progenitor cells: New hope for a broken heart. *Circulation*. 2003;107(24):3093–100.
36. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: Characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004;95(4):343–53.
37. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Della Porta M, Soukhomovskaia O, Malagutti P, et al. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation*. 2004;110(10):1209–12.
38. Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, Aicher A, Honold J, Fischer-Rasokat U, et al. Selective Functional Exhaustion of Hematopoietic Progenitor Cells in the Bone Marrow of Patients With Postinfarction Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(24):2341–9.
39. Michowitz Y, Goldstein E, Wexler D, Sheps D, Keren G, George J. Circulating endothelial progenitor cells and clinical outcome in patients with congestive heart failure. *Heart*. 2007;93(9):1046–50.

40. Theiss HD, David R, Engelmann MG, Barth A, Schotten K, Naebauer M, et al. Circulation of CD34+ progenitor cell populations in patients with idiopathic dilated and ischaemic cardiomyopathy (DCM and ICM). *Eur Heart J*. 2007;28(10):1258–64.
41. Fritzenwanger M, Lorenz F, Jung C, Fabris M. Differential Number Of CD34+, CD133+ and CD34+/CD133+ Cells In Peripheral Blood Of Patients With Congestive Heart Failure. *Eur J Med Res*. 2009;(14):113–7.
42. Oikonomou E, Siasos G, Zaromitidou M, Hatzis G, Mourouzis K, Chrysohoou C, et al. Atorvastatin treatment improves endothelial function through endothelial progenitor cells mobilization in ischemic heart failure patients. *Atherosclerosis*; 2015;238(2):159–64.
43. Makki N, Swaminathan PD, Olshansky B. Does cardiac resynchronization therapy benefit patients with ischemic and non-ischemic cardiomyopathy similarly? *Int J Cardiol*; 2013;168(4):4378–80.
44. Yu C-M, Bleeker GB, Fung JW-H, Schalij MJ, Zhang Q, van der Wall EE, et al. Left ventricular reverse remodeling but not clinical improvement predicts long-term survival after cardiac resynchronization therapy. *Circulation*. 2005;112(11):1580–6.
45. Dickstein K, Vardas PE, Auricchio A, Daubert JC, Linde C, McMurray J, et al. 2010 Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure. *Eur Heart J*. 2010;31(21):2677–87.
46. Linde C, Gold MR, Abraham WT, St John Sutton M, Ghio S, Cerkevnik J, et al. Long-term impact of cardiac resynchronization therapy in mild heart failure: 5-year results from the resynchronization reverses remodeling in systolic left ventricular dysfunction (REVERSE) study. *Eur Heart J*. 2013;34(33):2592–9.
47. Vidal B, Sitges M, Delgado V, Mont L, Díaz-Infante E, Azqueta M, et al. Influence of cardiopathy etiology on responses to cardiac resynchronization therapy. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60(12):1264–71.