



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Medicina I

Modulação terapêutica das células percursoras do endotélio por anti- hipertensores

Bernardo João de Sousa Pinto

JULHO'2018



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Medicina I

Modulação terapêutica das células percursoras do endotélio por anti- hipertensores

Bernardo João de Sousa Pinto

Orientado por:

Dr. Jorge Manuel Arsénio dos Santos Ruivo

JULHO'2018

Resumo

A medula óssea contém um subtipo particular de células progenitoras com capacidade para se diferenciarem em células endoteliais. As células precursoras de endotélio (EPCs) desempenham um papel-chave na manutenção da homeostasia endotelial e promovem a reparação vascular. A concentração normal de EPCs em circulação é considerada um marcador de saúde vascular.

O papel das EPCs na biologia vascular começa a ser melhor caracterizado, no entanto a sua função na hipertensão arterial (HTA) encontra-se ainda incompletamente estudada. Nomeadamente, os efeitos da terapêutica anti-hipertensora na biologia das próprias EPCs permanece pouco caracterizado.

Partindo destas premissas, nesta revisão sistematizada foi realizada uma pesquisa no PUBMED escrutinando a associação entre EPCs e o nome de classes de anti-hipertensores. Foram obtidos 181 artigos e após aplicação de critérios de elegibilidade foram selecionados 23 artigos, 4 dos quais excluídos após segunda revisão do artigo completo.

Classes como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, os antagonistas dos recetores da angiotensina II e os bloqueadores dos canais de cálcio demonstraram aumentar o número e a capacidade funcional das EPCs (mobilização, proliferação, diminuição da apoptose, resistência ao stress oxidativo e capacidade formadora de colónias). Já os diuréticos e os bloqueadores beta-adrenérgicos parecem não ter efeito modulador benéfico neste âmbito. Os nitratos orgânicos apresentam um efeito intermédio, dependendo do fármaco em questão.

Serão necessários, mais estudos, com critérios metodológicos mais homogéneos para confirmar as observações supracitadas, podendo vir futuramente a serem aplicados eventuais protocolos de atuação terapêutica, tendo em consideração os efeitos pleiotrópicos destas células.

Palavras-chave: Células progenitoras de Endotélio; Hipertensão Arterial; Anti-hipertensores; quantidade; qualidade.

Abstract

Bone marrow contains a particular subtype of progenitor cells capable of differentiating into endothelial cells. Endothelial precursor cells (EPCs) play a key role in maintaining endothelial homeostasis and promote vascular repair. The normal concentration of circulating EPCs is a vascular health marker.

The role of EPCs in vascular biology begins to be better characterized, however its role in arterial hypertension (AHT) is still incompletely studied. Notably, the effects of antihypertensive therapy on the biology of EPCs themselves remain poorly characterized.

Based on these premises, in this systematized review a research was done in the PUBMED scrutinizing the association between EPCs and the name of antihypertensive classes. 181 articles were obtained and after application of eligibility criteria, 23 articles were selected, 4 of which were excluded after a second review of the complete article.

Classes such as angiotensin converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists and calcium channel blockers have demonstrated increased functional capacity of EPCs (mobilization, proliferation, increased apoptosis, resistance to oxidative stress and formative capacity of colonies). Diuretics and beta-adrenergic blockers, however, do not appear to have a beneficial modulatory effect in this context. Nitrates should have an intermediate effect depending on the drug in question.

Further studies will be needed with more homogeneous methodological criteria to confirm the observations mentioned above, and future protocols for therapeutic action may be applied in future, taking into account the pleiotropic effects of these cells.

Keywords: Endothelial Progenitor Cell; Arterial Hypertension; Antihypertensive therapy; amount; quality.

Índice

Introdução	1
Origem das EPCs	1
Caracterização das EPCs.....	2
Mecanismo de ação.....	3
Isolamento e quantificação de EPCs.....	5
Fatores que influenciam o número de EPCs	5
Importância clínica das EPCs	6
<i>Rationale</i> para a revisão literária	7
Métodos	8
Resultados	9
Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina	10
Antagonistas dos Recetores da Angiotensina II.....	11
Diuréticos.....	13
Nitratos Orgânicos	14
Bloqueadores dos Canais de Cálcio.....	15
Bloqueadores Beta-Adrenérgicos	16
Discussão	16
Conclusão	22
Agradecimento	23
Bibliografia.....	24

Introdução

A integridade da camada endotelial desempenha um papel crucial na prevenção de hipertensão arterial (HTA) e de aterosclerose. A concentração e função das EPCs estão inversamente relacionadas com fatores de risco cardiovasculares (CV), com o grau de disfunção endotelial e com o aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular (1).

Atualmente, até 50% dos pacientes com doenças CV não apresentam os tradicionais fatores de risco, o que cria a necessidade de identificação de novos fatores e marcadores de risco (1).

O primeiro isolamento e caracterização das EPCs foi realizado em 1997 por *Asahara et al* (2). Neste estudo, foram isoladas EPCs a partir de sangue periférico humano, expressando CD34 entre outros marcadores de superfície.

As células estaminais adultas são células não especializadas com a capacidade de se replicarem ou auto-renovarem, tendo a possibilidade de originarem células maduras com características morfológicas específicas e função especializadas (3). Uma célula precursora ou progenitora é um tipo de célula indiferenciada intermédia que carece de capacidade de auto-renovação (3). Tais células são geralmente consideradas como “comprometidas” em diferenciar-se ao longo de uma via específica de desenvolvimento celular. As EPCs são um tipo de células progenitoras adultas “comprometidas” em diferenciar-se em células endoteliais maduras quando ativadas (3), mas não possuem características iniciais de células endoteliais maduras.

O estudo das EPCs no contexto da HTA, representam uma área clínica muito relevante e com potencial terapêutico. A HTA crónica continua a ser um problema de saúde pública e os seus mecanismos patogénicos específicos continuam por elucidar. Será que existe uma relação entre as EPCs e o aparecimento de HTA? Se sim, qual a natureza de tal relação? Será mediada por alterações na pressão arterial, ou existem outros fatores? Como poderá ser utilizado o nosso conhecimento atual sobre EPCs para orientação clínica da HTA?

Origem das EPCs

De acordo com vários estudos *in vitro* e *in vivo* (4), as EPCs e as Células Progenitoras Hematopoéticas (HPCs) derivam de uma célula estaminal comum designada hemangioblasto, partilhando ambas as linhagens antigénios de superfície comuns, tais como: Kinase insert domain receptor (KDR), Tie-2 e CD34 (5).

Estas células são mobilizadas a partir da medula óssea (MO), mas podem também residir na própria parede vascular (5). Existem determinadas regiões na parede das

artérias que contêm as referidas células (6). Na zona entre a túnica média e a adventícia, na vizinhança da lâmina elástica externa, foi identificado um grande número de EPCs. Estudos revelaram que estas podem assim migrar a partir da parede aorta, artérias e veias do fígado, próstata, coração, rins, testículos e pulmões (7).

Na MO, as EPCs residem num nicho osteoblástico, caracterizado por baixa tensão de oxigénio e níveis elevados de Fator derivado das células do estroma (SDF-1 α) (8). Quando necessárias são mobilizadas em resposta a estímulos periféricos, tais como o Fator induzido por hipoxia-1 α (HIF-1 α), o Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), a eritropoietina, o estrogénio e o CXCL2, por sua vez produzidos em resposta a insultos CV (8). O número de EPCs circulante no sangue periférico varia entre 5 a 40 células/mm³ (9).

Caracterização das EPCs

A definição e caracterização das EPCs é algo, ainda relativamente pouco consensual na comunidade científica. Este grupo de células representa uma população bastante heterogénea de acordo com a definição atual. São utilizadas duas estratégias para isolar as EPCs: a utilização dos marcadores de superfície ou a sua identificação através do seu fenótipo funcional em cultura.

Relativamente à primeira estratégia, é utilizada desde a experiência descrita por *Asahara et al*, que relatou células duplamente positivas para VEGFR-2 e CD34 as quais tinham a capacidade de incorporar a vasculatura de uma maneira semelhante às células endoteliais (2). Desde então, várias combinações de marcadores de superfície têm sido utilizados para identificar EPCs, tais como CD133, KDR ou Sca-1, vWF (Fator de Von Willibrand), CD31 e CD144 (10). Infelizmente, não existe um marcador de superfície específico que distinga definitivamente as EPCs.

Uma alternativa para identificar e isolar EPCs passa por inferir a presença de precursores endoteliais, dentro de uma determinada população de células, pela identificação de características endoteliais maduras, após um período de cultura sob condições pró-angiogénicas. Podemos assim encontrar dois fenótipos distintos de células, cujas principais diferenças estão representadas na tabela 1. Em primeiro lugar, as *Early-outgrowth* EPCs que são obtidas após sete dias em cultura. Estas células têm pouco potencial de proliferação, expressam antigénio CD133 e podem secretar fatores quimiotáticos ou de crescimento (11), devendo ser referidas antes como pró-angiogénicas e não ser verdadeiras EPCs, uma vez que não formam estruturas vasculares *per se*. Podem também denominar-se *Colony forming units (CFUs)*.

As EPCs que apenas surgem após vinte dias em cultura, são nomeadas como *late-outgrowth* EPCs e têm um potencial de proliferação maior e expressam antigénio CD144. Podem incorporar diretamente o endotélio de novos vasos e formar estruturas tubulares quando em cultura com células endoteliais vasculares umbilicais (11). São designadas também colónias formadoras de células endoteliais (ECFC).

Tabela 1 | Diferenças entre tipos de EPCs

Características	“Early EPCs”/ Células pró-angiogénicas	Late outgrowth EPCs
Proteína adesiva	Fibronectina	Colagénio
Precursor	CD45+, CD14+, CD34+, KDR+ , CD146-	CD34+, KDR+, CD146+, CD45-,CD14-
Aparecimento em cultura	5-7 dias	14-21 dias
Potencial proliferativo	Baixo	Alto
Função fagocítica	Sim	Não
Habilidade para formar redes vasculares	Baixa	Alta
Incorporação nos vasos	Baixa, preferencialmente perivascular	Alta
Libertação de Citocinas e Fatores de crescimento	Alto	Baixo
Aumento da neovascularização <i>in vivo</i>	Sim	Sim
Morfologia	Massa de células redondas e fusiformes	Células poligonais em monocamada de paralelepípedos

Fonte: Adaptado de referência nº 12

Mecanismos de ação

São inúmeros os fatores que conseguem mobilizar as EPCs a partir da MO ou dos vasos. A diminuição dos níveis de oxigénio, os danos endoteliais, a isquémia, o exercício físico, a libertação de citocinas, VEGF, eritropoetina, SDF-1 α , fatores de estimulação de colónias de granulócitos/macrófagos e as variações de concentração de ácido úrico são os estímulos de maior importância (7). Como demonstrado na tabela 2, existem também alguns fármacos com potencial para ativar ou suprimir a mobilização e proliferação das EPCs.

Tabela 2 | Potenciais agentes que afetam o recrutamento e mobilização de EPCs

Fatores		
Ativadores		
Fatores intrínsecos/condições	Baixo nível de oxigénio	<i>Hoffmann et al., 2013</i>
	Dano mecânico endotelial	<i>Werner et al., 2003</i>
	Isquémia	<i>Takahashi et al., 1999</i>
	Exercício físico	<i>Laufs et al., 2004</i>
	Libertação de citocinas	<i>Takahashi et al., 1999</i>
	VEGF	<i>Xiao et al., 2007</i>
	SDF-1 α	<i>Xiao et al., 2007</i>
	Fator estimulador de colónias de Granulócitos/macrófagos (G(M)-CSF)	<i>Xiao et al., 2007</i>
	Ácido Úrico	<i>Westerweel et al., 2007</i>
Fármacos	Inibidores da enzima conversora da Angiotensina (iECA)	<i>Xiao et al., 2007</i>
	Antagonistas dos recetores da angiotensina II (ARA II)	<i>Yu et al., 2008</i>
	Eritropoetina	<i>Bahlman et al., 2004</i>
	Insulina	<i>Dong et al., 2011</i>
	Glitazonas	<i>Pistrosch et al., 2005</i>
	Estatinas	<i>Dimmeler et al., 2001; Xiao et al., 2007</i>
	Terapia de substituição hormonal	<i>Xiao et al., 2007</i>
Inibidores		
Fatores intrínsecos/condições	Idade	<i>Park et al., 2014</i>
	Redução do nível de lipoproteínas de alta-densidade de colesterol	<i>Park et al., 2014</i>
	Scores de erosão óssea superiores	<i>Park et al., 2014</i>
Fármacos	Angiotensina II	<i>Endtmann et al., 2011</i>
	Sirolimus	<i>Banerjee et al., 2012</i>
	Paclitaxel	<i>Banerjee et al., 2012</i>
	Ciclosporina A	<i>Wang et al., 2008</i>
	Esteróides	<i>Bahlman et al., 2010</i>

Fonte: Adaptado de referência nº 13

Após o estímulo inicial são ativadas as metaloproteinases (MMP-9) (induzidas por óxido nítrico (NO)) que clivam a adesão de mKitL (*membrane-bound Kit ligand*) transformando-o em sKitL (*soluble Kit ligand*). Subsequentemente, as células estaminais e progenitoras cKit-positivas, incluindo os hemangioblastos, vão mover-se

até à zona vascular da MO, onde mudam de estado quiescente para proliferativo e são libertadas para a circulação (7).

A existência de um número normal de EPCs em circulação é considerada um marcador de “saúde endotelial” e de potencial regenerativo do endotélio. Contudo, um número aumentado das mesmas células no sangue periférico de forma pontual pode indicar a presença de dano endotelial agudo, de resposta inflamatória transitória, ou persistência de estimulação inflamatória (7).

A incorporação das referidas células nos locais de lesão endotelial (*homing*) requer a coordenação de uma sequência de vários passos desde os mecanismos de sinalização, incluindo a quimio-atração, o *rolling* mediado pela selectinas, a adesão mediada pelas integrinas, diapedese através da camada endotelial, a invasão da matriz extracelular envolvendo proteases e finalmente a diferenciação em células endoteliais (14). Apenas 1 a 20% das EPCs têm potencial para incorporarem diretamente a parede dos vasos com dano – equivalente fisiológico às *late outgrowth cells* (14). A maioria das referidas células atrai as células vizinhas endoteliais e melhoram o seu potencial de regeneração de uma maneira parácrina com a libertação de substâncias que promovem e melhoram o processo de reparação – equivalente fisiológico às *early outgrowth cells*.

Isolamento e quantificação de EPCs

As EPCs podem ser isoladas a partir da MO ou do sangue periférico. Por outro lado, outros estudos referem a possibilidade de isolar EPCs a partir do sangue do cordão umbilical (15). Por uma questão de maior rentabilidade e expansibilidade celular o isolamento geralmente é feito com recurso a culturas aderentes de células mononucleares ou de subpopulações enriquecidas imunomagneticamente em CD34. Após o isolamento, as células são colocadas em cultura num meio rico em fatores de crescimento (VEGF, extratos de cérebro bovino e fatores de crescimento epidérmicos) (15).

Fatores que influenciam o número de EPCs

A concentração de células CD34⁺KDR⁺ em circulação está diminuída em pacientes com tradicionais fatores de risco CV, entre os quais se destacam fumadores, hipercolesterolémia LDL (16), diabetes *mellitus* (17) e HTA (18). Na tabela 3 estão representados fatores fisiológicos, patológicos e terapêuticos que afetam o número de EPCs. Parece ainda existir um efeito cumulativo de múltiplos fatores de risco CV na concentração de EPCs (16), com níveis marcadamente diminuídos por exaustão medular em pacientes com doença aterosclerótica estabelecida (19).

É ainda evidente, uma correlação robusta entre uma concentração elevada de EPCs e ausência de enfarte agudo do miocárdio (EAM), hospitalizações, revascularizações e morte cardiovascular em pacientes com doença coronária (19).

Tabela 3 | Fatores fisiológicos, patológicos e terapêuticos que afetam o número de EPCs em circulação

Condições ou fatores	Alterações no número de EPCs
Fisiológico	
Desenvolvimento embrionário (sangue do cordão umbilical)	↑
Patológico	
Fatores de risco CV	↓
Isquemia dos membros	↑
Enfarte agudo do miocárdio	↑
Lesão vascular	↑
Fármacos	
Estatinas	↑
Fatores de crescimento	
VEGF	↑
G(M)-CSF	↑

Fonte: Adaptado de referência nº 20

Importância clínica das EPCs

As EPCs podem ser aplicadas em três diferentes áreas de tratamento: na reparação da parede de vasos com lesão, para neovascularização ou regeneração de tecidos em isquemia e para revestir enxertos vasculares (21). Em particular na HTA, existem estudos que defendem a possibilidade do número e função das EPCs poder estar preservado em pacientes com HTA essencial, desde que esta se encontre controlada, o que indicia que as terapias farmacológicas atualmente empregues no tratamento da HTA podem regular a quantidade e funcionalidade das EPCs por mecanismos pleotrópicos (22). Considerando o papel das EPCs na integridade vascular e que os danos endoteliais serão o primeiro passo na história natural dos eventos CV *major*, os tratamentos dirigidos às EPCs poderão revolucionar a farmacologia anti-hipertensora, concentrando os esforços em fases cada vez mais precoce da doença (23). Inclusive, as EPCs apresentam também um importante valor prognóstico, demonstrando ter a capacidade de identificar condições de risco CV e prever melhor/pior desfecho CV, sugerindo-se assim a sua avaliação como um marcador razoável em diferentes cenários CV (24).

Existe, contudo, uma limitação técnica para a aplicação e modulação terapêutica de EPCs, pois estas encontram-se em número reduzido na circulação. Pode ainda tornar-se mais limitante, porque essa concentração é mais reduzida em pacientes com fatores de risco CV (25) que são os que mais poderiam beneficiar destas células. Várias abordagens para tentar resolver este problema foram procuradas, incluindo: a utilização de sangue de cordão umbilical, ou a mobilização de EPCs com citocinas, fatores de crescimento, ou fármacos e técnicas dirigidas para melhorar o potencial destas células como a modificação genética ou epigenética (26).

A transplantação de EPCs, metodologicamente complexa, tem sido amplamente estudada mas com resultados pouco animadores até à presente data (26). A utilização de fármacos é um bom exemplo de melhoria da *performance* das EPCs, com especial destaque para alguns fármacos como as estatinas que podem aumentar a quantidade de EPCs em circulação e a sua incorporação no local de lesão endotelial (26). Teoricamente, as EPCs podem ser expandidas *in vitro* para utilização terapêutica, mas atualmente este trabalho é laborioso e muito dispendioso. Estudos realizados em modelos animais e humanos revelaram que o número e funcionalidade das EPCs podem ser aumentados por intervenções farmacológicas, como por exemplo, estatinas, eritropoetina humana recombinante ou análogos da darbopoetina (27). Estas descobertas podem ter relevância clínica, devido à persistente estimulação das EPCs pelos alvos da terapêutica farmacológica da HTA, pois podem teoricamente reparar a lesão endotelial e diminuir a progressão da doença aterosclerótica em pacientes de risco.

A amplificação da função das EPCs, através da administração de fármacos que combatem fatores de risco CV, potenciando condições ótimas para a atividade/sobrevivência das mesmas e para o crescimento endotelial, poderá ser a direção no futuro (28).

Rationale para a revisão literária

As doenças CV são a principal causa de morte nos países desenvolvidos (29). A HTA, enquanto principal fator de risco deve ser controlada de forma adequada. O estudo PHYSA estimou uma prevalência de HTA em Portugal Continental de 42,2% (29). No entanto, revelou que apenas 28,6% dos hipertensos tratados estavam controlados (29). Existe um consenso relativamente ao tratamento da HTA poder reduzir o risco de eventos CV, incluindo EAM, doença coronária, insuficiência cardíaca e renal (30).

Apesar do papel das EPCs na biologia vascular estar exaustivamente estudado, o seu papel e função na HTA permanece por definir. Neste contexto, os efeitos de fármacos anti-hipertensores, como por exemplo antagonistas dos recetores da angiotensina II ou bloqueadores dos canais de cálcio, na mobilização de EPCs em pacientes hipertensos não foi ainda suficientemente analisada.

Partindo destas premissas, nesta revisão sistemática foi reunida toda a evidência científica existente sobre a terapêutica anti-hipertensora, o seu papel na quantidade e qualidade das EPCs e os mecanismos fisiológicos subjacentes a esses efeitos.

Métodos

Para garantir a inclusão de estudos relevantes sobre a temática, foi realizado uma pesquisa no Pubmed dia 12 de Novembro de 2017. Foi utilizada a seguinte sequência de pesquisa:

(EPCs[Title] OR Endothelial progenitor cells[Title] OR Endothelial progenitor Cell [title]) AND (Diuretics[Title/Abstract] OR Diuretic[Title/Abstract] OR Calcium channel blockers[Title/Abstract] OR Calcium channel blocker[Title/Abstract] OR ACE inhibitors[Title/Abstract] OR ACE inhibitor[Title/Abstract] OR Angiotensin II receptor antagonists[Title/Abstract] OR Angiotensin II receptor antagonist[Title/Abstract] OR Vasodilators[Title/Abstract] OR Vasodilator[Title/Abstract] OR Renin inhibidores[Title/Abstract] OR Renin inhibitor[Title/Abstract] OR Aldosterone receptor antagonists[Title/Abstract] OR Aldosterone receptor antagonist[Title/Abstract] OR Alpha-2 adrenergic receptor agonists[Title/Abstract] OR Alpha-2 adrenergic receptor agonist[Title/Abstract] OR Endothelin receptor blockers[Title/Abstract] OR Beta-Blockers[Title/Abstract] OR Endothelin receptor blocker[Title/Abstract] OR Beta-Blocker[Title/Abstract] OR (EPC* or Endot*)[Title] and (Hypert* or blood pressure) [Title/Abstract] and (*sartan or *pril or *emide or *dipine or *olol or *thiazide or nitr* or aliskiren or eplerenone or spironolactone or methyldopa or clonidine or *entan) [Title/Abstract]

Filtros ativos: Apenas *Randomized Control trials* (RCT) e data posterior a 1 de Janeiro de 2000

Os critérios de elegibilidade a nível de resumo foram: [1] Estudos apenas em língua inglesa, [2] estudos em populações com fatores de risco CV (diabetes, HTA, obesidade, dislipidémia, tabagismo), [3] estudos envolvendo apenas fármacos com efeitos anti-hipertensores sistémicos.

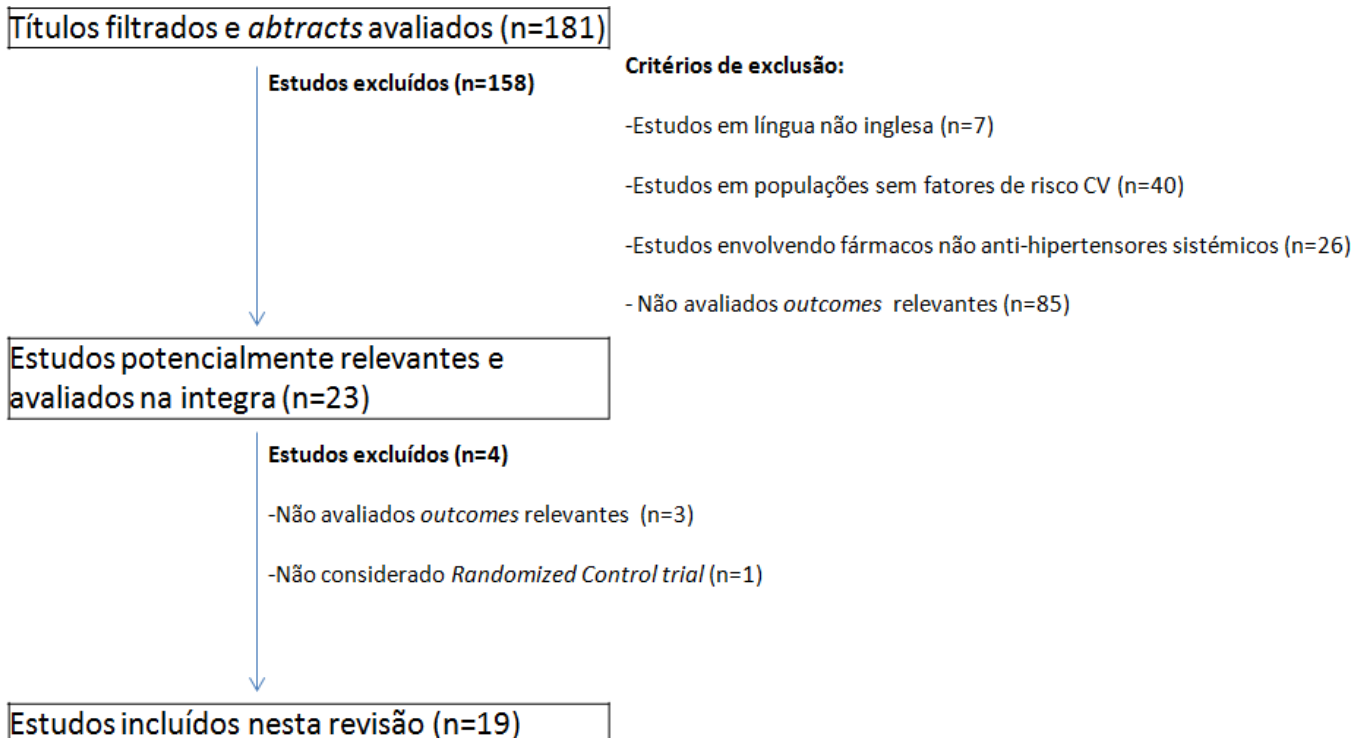
Foram extraídos os seguintes dados e *outcomes*: autores, ano da publicação, país em que foi realizado o estudo, *design* do estudo, características da população, fármaco utilizado na intervenção, dose do fármaco, tipos de EPCs isoladas, alterações no número das EPCs, alterações na qualidade das EPCs, tempo de seguimento e mecanismos subjacentes.

Resultados

Foram obtidos 181 artigos com os critérios de pesquisa supracitados. Os *abstracts* de todos os estudos foram revistos para identificar estudos potencialmente relevantes para uma análise mais detalhada.

Após aplicação dos critérios de elegibilidade definidos foram excluídos 158 estudos, resumindo a amostra a 23 estudos. Após a leitura integral dos artigos, 4 dos anteriores foram excluídos: 3 dos quais por não avaliarem *outcomes* relevantes e 1 por não ser um *Randomized Control trial*. Para esta revisão sistemática foi então utilizada uma amostra de 19 estudos. O diagrama da seleção de artigos está representado na figura 1. Posteriormente, as bibliografias dos artigos analisados foram examinadas para identificar estudos relevantes não encontrados pela pesquisa eletrônica.

Figura 1| Seleção de artigos incluídos na revisão



Classes farmacológicas:

A) Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina:

Foram reunidos seis estudos, representados na tabela 4, em que são utilizados inibidores da enzima de conversão da angiotensina (iECAs) na tentativa de avaliar o seu impacto na quantidade e qualidade de EPCs. Dentro desta classe farmacológica, foram avaliados quatro fármacos diferentes: perindopril, ramipril, enalapril e zofenopril.

Tabela 4 | Estudos avaliando iECAs

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Cangiano et al.</i> (31)	Perindopril	10 mg	Status pós EAM sem supra ST	Não avaliado	↑ mobilização e ↓ a apoptose das mesmas	CD34+ e CD45+	1 mês
<i>Endtmann et al.</i> (32)	Ramipril	10 mg	Pacientes com angina estável	Sem alterações	↑ capacidade de formação de colónias e capacidade de migração	CD34+ e KDR+	3 meses
<i>Cacciatore et al.</i> (33)	Enalapril	20 mg	Pacientes com HTA	↑	Sem alterações	CD34+, KDR+	5 anos
<i>Cacciatore et al.</i> (33)	Zofenopril	30 mg	Paciente com HTA	↑	Sem alterações	CD34+, KDR+	5 anos
<i>Sun et al.</i> (34)	Perindopril	4mg	Pacientes com Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) status pós EAM	↑	↑ capacidade de mobilização	CD34+, CD133+, KDR+ e CD45-	6 meses
<i>Porto et al.</i> (35)	Ramipril	5mg	Status pós EAM com ou sem supra ST	↑, mas não devido ao fármaco utilizado	Não avaliada	CD34+, KDR+, CD133+ e CD 45-	20 dias
<i>Kampoli et al.</i> (36)	Perindopril	4mg	Pacientes com DM2	Sem alterações	Não avaliada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 mês
<i>Fearon et al.</i> (37)	Ramipril	2,5mg a 20mg *	Status pós transplante cardiaco	↑	↑ capacidade de proliferação e migração	CD34+, CD31+ e CD45-	2 meses

*Duplicando a dose a cada 2 semanas se não existirem efeitos adversos ao fármaco.

Relativamente ao perindopril foram realizados três estudos: *Cangiano et al* (31), utilizando uma população de pacientes pós EAM sem supra ST, demonstrou que o referido fármaco aumentou a mobilização e diminuiu a apoptose das EPCs com apenas um mês de terapêutica. A quantidade de EPCs em circulação não foi avaliada como *outcome* do estudo.

Kampoli et al. (36), utilizou uma dose mais baixa do fármaco (4 mg contra 10mg anteriormente referidos). Não demonstrou alterações nem no número nem qualidade das EPCs.

Sun et al. (34), com o mesmo fármaco mas com um *follow-up* de 6 meses em pacientes com Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) pós EAM, demonstrou um aumento do número de EPCs. Os achados relativos à qualidade das EPCs foram concordantes com o estudo realizado por *Cangiano et al.*(31).

Com ramipril, estudos em doentes com síndrome coronário agudo, *Endtmann et al.* (32) em pacientes com angina estável e *Porto et al.* (35) em pacientes pós EAM, não conseguiram demonstrar alterações na quantidade de EPCs. Ainda assim, demonstraram uma melhoria na capacidade de formação de colónias e na capacidade de migração.

Em pacientes pós transplante cardíaco, *Fearon et al.* (37) constatou um aumento do número de EPCs, assim como uma melhoria na qualidade das referidas células.

Cacciatore et al.(33), num estudo de 5 anos em pacientes recém diagnosticados com HTA demonstrou um aumento no número de EPCs utilizando dois fármacos: enalapril e zofenopril. Não foram documentadas alterações na qualidade das EPCs.

B) Antagonistas dos Recetores da Angiotensina II

Reunidos oito estudos sobre os antagonistas dos recetores de angiotensina II (ARAI), representados na tabela 5, podemos encontrar alguns achados comuns entre os mesmos. Em todos os estudos com a exceção de dois (*Bennedorf et al.*(38) e *Cangiano et al.* (31)) foi verificado um aumento do número de EPCs. No primeiro estudo referido, não foram detetadas alterações na quantidade de EPCs com telmisartan, não estando de acordo com estudos realizados por: *Endtmann et al.*(32), *Pelliccia et al.*(39) ou *Porto et al.*(35) com o mesmo fármaco e a mesma dose. No estudo de *Cangiano et al.* (31) com valsartan, a quantidade de EPCs não foi um dos *outcomes* avaliados.

Apesar da heterogeneidade dos estudos, todos os que avaliaram a qualidade das EPCs referem uma melhoria deste parâmetro com a utilização de ARA2 (nomeadamente com valsartan, telmisartan e losartan), apresentando uma maior mobilização, migração, capacidade de formação de colónias ou diminuição da apoptose.

Tabela 5 | Estudos avaliando ARAII

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Cangiano et al.</i> (31)	Valsartan	160 mg 2x/dia	Status pós EAM sem supra ST	Não avaliado	↑mobilização e ↓ apoptose	CD34+ e CD45+	1 mês
<i>Endtmann et al.</i> (32)	Telmisartan	80 mg	Pacientes com angina estável	↑	↑ capacidade de formação de colônias e capacidade de migração	CD34+ e KDR+	3 meses
<i>Suzuki et al.</i> (40)	Losartan	50 mg	Pacientes com HTA essencial	↑	Não avaliada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 mês
<i>Bahlmann et al.</i> (27)	Olmesartan	40 mg	Pacientes com DM2	↑	Não avaliada	CD34+	3 meses
<i>Bahlmann et al.</i> (27)	Irbesartan	300 mg	Pacientes com DM2	↑	Não avaliada	CD34+	3 meses
<i>Pelliccia et al.</i> (39)	Telmisartan	80 mg	Pacientes com angina estável	↑	Não avaliada	CD34+, KDR+, CD45-, CD133+, CD14+ e CD45+	1 mês
<i>Porto et al.</i> (35)	Telmisartan	80 mg	Status pós EAM com ou sem supra ST	↑	Não avaliada	CD34+, KDR+, CD133+ e CD 45-	20 dias
<i>Benndorf et al.</i> (38)	Telmisartan	80 mg	Pacientes com HTA essencial	Sem alterações	↑ capacidade de mobilização	CD34+, CD133+ e CD146+	6 semanas
<i>Fujimura et al.</i> (41)	Losartan	100 mg	Pacientes com HTA essencial	↑	↑ capacidade de migração	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 ano

C) Diuréticos

Foram realizados seis estudos, representados na tabela 6, com diferentes classes de diuréticos. Entre as quais se destacam: tiazidas (triclórometiazida e hidroclorotiazida) e diuréticos poupadores de potássio ou antagonistas do recetor da aldosterona (eplerenona).

Tabela 6 | Estudos avaliando diuréticos

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Suzuki et al. (40)</i>	Triclórometiazida	4 mg	Pacientes com HTA essencial	Sem alterações	Não avaliada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 mês
<i>Bahlmann et al. (27)</i>	Hidroclorotiazida	25 mg	Pacientes com DM2	Sem alterações	Não avaliada	CD34+	3 meses
<i>Ciuceis et al. (42)</i>	Hidroclorotiazida	25 mg	Pacientes com HTA essencial	Sem alterações	Não melhorada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	6 meses
<i>Peixiao et al. (43)</i>	Hidroclorotiazida	25 mg	Pacientes com HTA e + de 60 anos	Sem alterações	Não avaliada	CD34+ e CD133+	6 meses
<i>Sudano et al. (44)</i>	Eplerenona	25 mg	Pacientes com Doença Coronária e FE conservada	Sem alterações	Não melhorada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 mês
<i>Fujimura et al. (41)</i>	Eplerenona	25 mg	Pacientes com HTA essencial	↑	↑ capacidade de migração	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 ano

Os resultados obtidos são congruentes relativamente às tiazidas. A referida classe farmacológica de diuréticos não aumenta em número nem em qualidade as EPCs.

Relativamente aos diuréticos poupadores de potássio, os dois estudos incluídos são divergentes. *Sudano et al. (44)* verificou que não existem alterações na quantidade nem qualidade de EPCs após um mês de terapêutica com 25mg de eplerenona. *Fujimura et al. (41)*, obteve resultados positivos em ambos os *outcomes* avaliados após um ano de terapêutica com o mesmo fármaco e mesma dose.

D) Nitratos orgânicos

Foram avaliados apenas dois estudos, representados na tabela 7, testando o papel de três diferentes nitratos orgânicos na quantidade e qualidade das EPCs.

Tabela 7 | Estudos avaliando nitratos orgânicos

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Thum et al. (45)</i>	Dinitrato de isossorbida	40 mg	Pacientes com angina estável	Sem alterações	Não melhorada	CD34+, KDR+ e CD133+	2 semanas
<i>Thum et al. (45)</i>	Tetranitrato de pentaeritrina	80 mg	Pacientes com angina estável	↑	↑capacidade de formação de colónias	CD34+, KDR+ e CD133+	2 semanas
<i>Difabio et al.(46)</i>	Trinitrato de glicerina	0,6m g/h transdermico	Pacientes com angina estável	↑	↑apoptose; Sem efeito na migração ou diferenciação	CD34+ e CD133+	1 semana

Thum et al. (45) demonstrou que o dinitrato de isossorbida (DNI) não altera o número nem a qualidade das EPCs. O mesmo autor, na mesma população de doentes com angina estável com tetranitrato de pentaeritrina (PETN), evidenciou um aumento dos níveis das EPCs, assim como um aumento da capacidade de formação de colónias das referidas células.

Difabio et al.(46), num segundo estudo, testou outro nitrato: trinitrato de glicerina (NTG), de administração transdérmica. Foi evidente um aumento quantitativo das EPCs mas aumentou a suscetibilidade das mesmas à apoptose, todavia sem alterações na sua capacidade de migração ou diferenciação.

E) Bloqueadores dos Canais de Cálcio (BCC)

Os bloqueadores dos canais de cálcio (BCC) são das classes farmacológicas mais estudadas relativamente ao seu efeito nas EPCs, a par dos fármacos que atuam no eixo Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAA).

Na revisão foram incluídos cinco estudos, representados na tabela 8, com diferentes fármacos: nifedipina, barnidipina, nisoldipina e lercanidipina. Os estudos são concordantes e apresentam um aumento do número de EPCs com todos os fármacos utilizados. São também notáveis, os efeitos benéficos desta classe de fármacos, no que diz respeito à qualidade das EPCs (com aumento da função de angiogênese: diferenciação, migração e resistência ao stress oxidativo). Existe apenas uma exceção, o estudo realizado por *Fujimura et al.*(41) com nifedipina que não encontrou melhorias quantitativas ou qualitativas nas EPCs.

Tabela 8 | Estudos avaliando BCC

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Sugiura et al.</i> (47)	Nifedipina	20 mg	Pacientes HTA de novo	↑	↑diferenciação, migração e resistência ao stress oxidativo	CD34+ e CD133+	1 mês
<i>Ciuceis et al.</i> (42)	Barnidipina	20 mg	Pacientes com HTA essencial	↑	↑marcadores de função endotelial	<i>EPC colony forming unit assay</i>	6 meses
<i>Benndorf et al.</i> (38)	Nisoldipina	10 mg	Pacientes com HTA essencial	↑	↑ capacidade de mobilização e Diferenciação	CD34+, C D133+ e CD146+	6 semanas
<i>Peixiao et al.</i> (43)	Lercanidipina	10 mg	Pacientes com HTA e + de 60 anos	↑	Não avaliada	CD34+ e CD133+	6 meses
<i>Fujimura et al.</i> (41)	Nifedipina	50 mg	Pacientes com HTA essencial	Sem alterações	Não melhorada	<i>EPC colony forming unit assay</i>	1 ano

F) Bloqueadores Beta-Adrenérgicos

Foram incluídos apenas dois estudos, representados na tabela 9, relacionando a classe farmacológica dos bloqueadores beta-adrenérgicos (BB) com as EPCs. Foram avaliados assim, três fármacos: atenolol, nebivolol e metoprolol.

Tabela 9 | Estudos avaliando BB

Estudo	Fármaco	Dose	População	Número de EPCs	Qualidade das EPCs	Tipos de EPCs	Tempo de seguimento
<i>Bahlmann et al. (27)</i>	Atenolol	100 mg	Pacientes com DM2	Sem alterações	Não avaliada	CD34+	3 meses
<i>Kandavar et al. (48)</i>	Nebivolol	5mg	Pacientes com HTA	Sem alterações	Não avaliada	CD34+, CD133+ e KDR+.	2 meses
<i>Kandavar et al. (48)</i>	Metoprolol	50 mg	Pacientes com HTA	Sem alterações	Não avaliada	CD34+, CD133+ e KDR+.	2 meses

Ambos os estudos, referem uma não eficácia destes fármacos em relação à quantidade de EPCs. Não fez parte dos *outcomes* dos estudos avaliar a qualidade das referidas células.

Discussão

Existe uma relação entre a elevação crónica da tensão arterial e as anormalidades na biologia das EPCs (49). Esta não deve ser considerada uma relação causal direta, mas pode ser consequência da combinação de complexos mecanismos reguladores e processos fisiopatológicos que intervêm na disfunção endotelial, tais como alterações no SNA, no eixo RAA, inflamação ou síntese de espécies reativas de oxigénio (49). Existem vários fármacos que podem atuar nestes mecanismos que originam disfunção endotelial. Discutimos seguidamente os efeitos das principais classes de anti-hipertensores nas EPCs.

A inibição da Enzima de Conversão da Angiotensina (ECA) é uma terapia comum para a HTA que demonstra inibir a degradação da bradicinina, aumentar cGMP nas células endoteliais, diminuir a produção de espécies reativas de oxigénio, sintetizar óxido nítrico e aumentar a sua libertação. Os inibidores da ECA têm ainda um potencial anti-inflamatório, diminuindo os valores de proteína C-reativa (34). Parece ser igualmente benéfica na modulação das EPCs (34). A expressão da ECA pode regular primitivamente os hemangioblastos (34). O eixo RAA parece assim poder ser explorado

para direcionar o destino das EPCs durante a regeneração vascular (33). Poderá fazer sentido privilegiar as classes farmacológicas que inibem o referido eixo. A inibição da referida enzima aumenta a expressão de muitos sinais moleculares, incluindo SDF-1 e VEGF (34), os quais são libertados em circulação e atuam na MO para promover a libertação de EPCs.

Relativamente aos iECAs o estudo realizado por *Cacciatore et al.*(33) com enalapril e zofenopril, foi o único que não identificou melhoria na qualidade das EPCs. Todos os restantes efetuados com perindopril e ramipril constataram uma melhoria na qualidade das mesmas em relação à sua proliferação, mobilização, capacidade de formação de colónias e diminuição da apoptose.

Relativamente à quantidade de EPCs, os achados foram menos consensuais. Alguns estudos apontaram que nomeadamente zofenopril, enalapril e perindopril têm efeitos benéficos quantitativos nas EPCs. Contudo, alguns estudos com ramipril e perindopril não demonstraram aumento dos níveis das EPCs. Esta heterogeneidade de resultados pode ser causada pela heterogeneidade das populações em estudo; tipos de EPCs heterogéneas; método de quantificação de EPCs diferente; dosagens diferentes; número de pacientes limitado ou tempo de *follow-up* curto para demonstrar o potencial de ação do fármaco. Tendo esta premissa em consideração podemos verificar que estudos mais longos tais como *Cacciatore et al.*(33) com 5 anos de seguimento, demonstram um aumento quantitativo de EPCs após terapêutica com enalapril ou zofenopril. Foi demonstrado por *Cangiano et al.* (31), que as células de pacientes com síndromes coronárias agudas têm um potencial apoptótico aumentado, mas a utilização de iECAs diminuiu esse potencial, porque a concentração sérica de agentes que induzem a apoptose é diminuída (angiotensina II e TNF- α) e aumentam a concentração de agentes anti-apoptóticos (bradicinina e VEGF). Estas características podem explicar parcialmente os efeitos anti-*remodeling* dos iECAs.

Uma segunda classe farmacológica com mecanismos que aumentam o número e qualidade das EPCs muito semelhantes aos dos iECAs, são os ARAII (40). Estes parecem estar relacionados com o bloqueio do eixo RAA, nomeadamente dos receptores AT-1 da angiotensina II, que está envolvida na lesão endotelial, aterogénese e indução da apoptose da EPCs. O efeito protetor dos ARA II é ainda considerado associado ao aumento de VEGF (anti-apoptótico), à formação de matriz extracelular e diminuição do stress oxidativo. Os iECAs e os ARA II melhoram a função das EPCs porque atuam ainda no eixo RAA local presente na MO. Este sistema está presente nas células do estroma, progenitoras hematopoéticas e regula autócrina/parácrinamente a hematopoiese. A Angiotensina II apresenta efeitos deletérios, em contrapartida a Angiotensina (1-7) estimula a proliferação de células CD34⁺. A Angiotensina (1-7) é aumentada pela inibição do receptor AT-1 (40).

Estudos *in vitro*, comprovam ainda que o telmisartan tem um mecanismo adicional e independente do bloqueio da Angiotensina II: a ativação do peroxissoma (via PPAR-y dependente da via PI3K/Akt) que lhe confere um potente efeito anti-inflamatório e anti-apoptótico (32).

Embora com mecanismos semelhantes, o efeito benéfico dos ARAII na quantidade e qualidade das EPCs, parece ter apresentado resultados mais consensuais do que os iECAs. Estes achados poderão ser justificados pelas razões anteriormente apresentadas, relativamente à heterogeneidade dos estudos em que os iECAs estão envolvidos ou, por outro lado, a um efeito de classe mais forte dos ARAII, possivelmente explicado pela atuação na via PPAR-y dependente da via PI3K/Akt que é exclusiva dos ARAII (49).

Em relação aos diuréticos, os dados obtidos suportam a hipótese de que os diuréticos tiazídicos (triclórometiazida e hidroclorotiazida) não melhoram a quantidade nem qualidade das EPCs. No que concerne aos diuréticos poupadores de potássio, nomeadamente a eplerenona, os estudos apresentados são contraditórios em termos de resultados.

Sudano et al. (44), constatou que não existiram alterações na quantidade nem qualidade de EPCs após um mês de terapêutica com 25mg de eplerenona em pacientes com doença coronária com fração de ejeção conservada. Estes resultados negativos, em comparação com os resultados positivos das investigações de *Fujimura et al.* (41), em pacientes com HTA essencial podem ser justificados por: a ativação do eixo RAA poder ter uma importância menos pronunciada nos doentes com doença coronária face aos pacientes com HTA essencial. No estudo de *Sudano et al.* (44) foram excluídos pacientes com insuficiência renal, insuficiência cardíaca e HTA descontrolada, todas condições em que o eixo RAA está bastante ativo. Alguns dos doentes que integraram esse estudo estavam também a receber tratamento com iECAs, ARAII ou estatinas que são fármacos que podem melhorar a disfunção endotelial e podem ser fatores de confundimento. Com estes fármacos a melhorarem a função endotelial, a eplerenona pode não ter demonstrado eventual efeito benéfico pro-EPCs.

Para chegarmos a um esclarecimento mais fidedigno, são necessários mais estudos e com mais fármacos da mesma classe tais como espironalactona.

Em relação aos nitratos orgânicos, os ensaios clínicos disponíveis atualmente são escassos. *Thum et al.* (45) demonstrou que o dinitrato de isossorbida (DNI) tem um papel inerte em relação às EPCs. Por outro lado, o tetranitrato de pentaeritrina (PETN), evidenciou um aumento dos níveis de EPCs assim como um aumento da capacidade de formação de colónias das referidas células. Num segundo estudo, *Difabio et al.*(46), com trinitrato de glicerina (NTG) de administração transdérmica, evidenciou um aumento quantitativo das EPCs mas aumentou a suscetibilidade das mesmas à apoptose. Não demonstrou efeito na capacidade de migração ou diferenciação das referidas células.

Em geral, as terapias que aumentam a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) têm a capacidade de melhorar as EPCs. No entanto, apenas o PETN melhora a função das EPCs, enquanto o DNI e NTG aumentam a formação de anião superóxido intracelular, aumentando o stress oxidativo e prejudicando as EPCs. Existe assim, uma diferença entre os referidos nitratos orgânicos na biodisponibilidade de NO e na produção de stress oxidativo, como demonstrado em modelos animais (45).

Uma explicação plausível para as diferenças encontradas: O PETN aumenta o sistema enzimático antioxidante e previne a formação de espécies reativas de oxigênio. No entanto, a maior parte dos nitratos têm falta de capacidade anti-oxidante. O DNI e NTG são fármacos que exemplificam essa lacuna, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio que causam disfunção endotelial. Mas a etiologia dessa disfunção endotelial é multifatorial, envolvendo mecanismos enzimáticos e químicos (inibição da atividade da sintase de NO endotelial), o endotélio, células musculares lisas assim como a adaptação neurohormonal e alterações no eixo RAA. O aumento do número de EPCs verificado com NTG poderá ser compensatório do acréscimo do *turnover* das mesmas, uma vez que a apoptose está aumentada.

Mais estudos serão necessários, com diferentes dosagens e diferentes fármacos da mesma classe farmacológica.

Os BCC são outra classe farmacológica que merece destaque. Foram abordados quatro diferentes fármacos (nifedipina, barnidipina, nisoldipina e lercanidipina). Todos os estudos são concordantes e apresentam um aumento do número de EPCs, assim como uma melhoria qualitativa em relação às referidas células (com aumento da função de angiogênese). Existe apenas um estudo que é exceção. *Fujimura et al.*(41) utilizando nifedipina não encontrou melhorias quantitativas ou qualitativas nas EPCs. O estudo realizado por *Sugiura et al.* (47) apresenta resultados positivos em relação ao mesmo fármaco. Esta heterogeneidade em relação à nifedipina, poderá ser explicada pelos estudos utilizarem diferentes dosagens, diferentes características populacionais, diferentes tipos de células ou técnicas de isolamento celular heterogêneas.

Estudos complementares (47) indicam que os BCC reduzem o stress oxidativo e diminuem a apoptose celular. Estimulam a libertação de VEGF desde as células musculares lisas, o que aumenta a formação endotelial de NO e contribui para a mobilização de células progenitoras. Estes fármacos possuem ainda mecanismos exclusivos pró-EPCs que ativam vias relacionadas com a produção de SDF-1 através dos CXCR4/CXCR7 (49), que participam no recrutamento das referidas células. Os BCC melhoram assim a função endotelial, pelo menos em parte devido à modulação da proliferação e atividade angiogénica das EPCs.

Os BB são outra classe de anti-hipertensores que carece de estudos realizados no âmbito das EPCs.

Alguns autores, referem que existe evidência do envolvimento do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) na alteração do comportamento das EPCs em hipertensos (49). As variações circadianas da função e quantidade de EPCs são semelhantes às variações circadianas do SNA (Sistema Nervoso Simpático e Parassimpático) (49). Foram também encontrados β -adrenoreceptores na superfície de EPCs (49) e a ativação pontual e aguda desses recetores pode melhorar a proliferação, migração celular e a angiogénese. No entanto, em indivíduos com HTA crónica, com a atividade simpática persistentemente elevada, a ativação constante desses recetores diminui a diferenciação e libertação medular de EPCs devido à exaustão do *pool* destas células na MO. Por esta razão, seria de esperar que a utilização de BB em hipertensos pudesse melhorar quantitativamente e qualitativamente as EPCs, mas tal não se verificou nos estudos analisados.

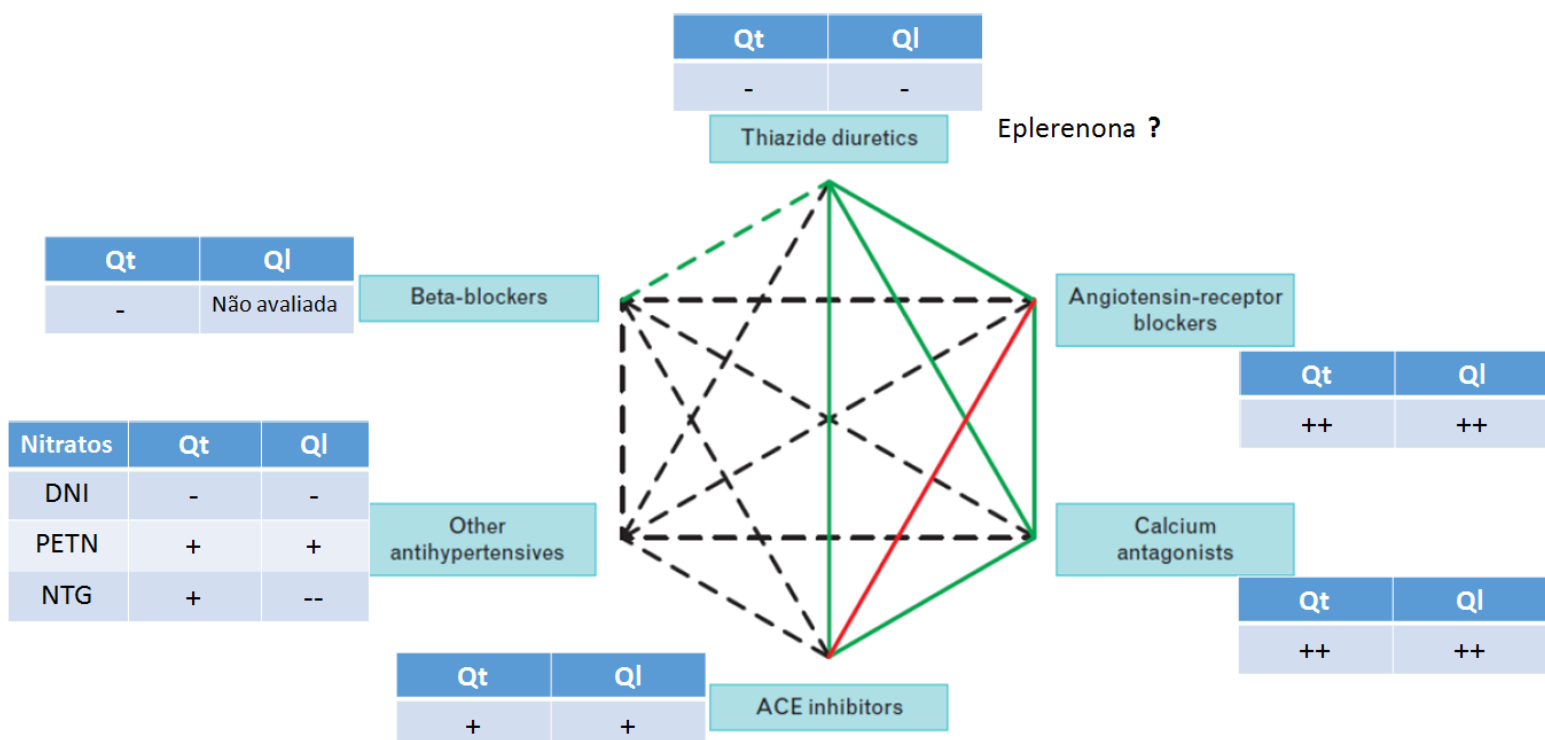
Dos dois estudos referidos, *Bahlmann et al.* (27) e *Kandavar et al.* (48) e apesar de realizados em populações diferentes e com diferentes tipos de células isoladas, ambos demonstraram que os BB (atenolol, nebivolol e metoprolol) não têm efeito sobre a quantidade de EPCs. A qualidade destas células não foi avaliada.

Existe evidência de que independentemente da classe farmacológica escolhida e do nível do controlo da HTA, qualquer aumento da concentração e função das EPCs por qualquer mecanismo (farmacológico, exercício, dieta, etc) resulta na proteção CV (1). Os vários ensaios clínicos aqui resumidos indicam que vários fármacos anti-hipertensores além do seu efeito na redução da TA, têm também efeitos pró-EPCs, que poderemos considerar como efeitos pleiotrópicos. A questão surge no momento da escolha de um anti-hipertensor específico para um indivíduo específico. Poderemos pensar em realizar uma terapia farmacológica individualizada e personalizada. Estas considerações poderão ter impacto no futuro, quando se começar a analisar de forma sistemática e padronizada a quantidade e qualidade de EPCs de pacientes na prática clínica. Poderá ser interessante optarmos por esquemas terapêuticos anti-hipertensores que privilegiem classes farmacológicas pró-EPCs em detrimento de outras, particularmente para hipertensos com demonstração de um *pool* circulante de EPCs já reduzido devido a fatores de risco CV ou por eventos CV *major* anteriores.

Podemos assim, com base nas *guidelines* de associação de anti-hipertensores representadas na figura 2, combinar alguns fármacos com efeitos positivos relativamente às EPCs. Na figura 2, as linhas verdes contínuas representam as combinações de fármacos preferenciais. Destas destacam-se as combinações com fármacos que melhoram as EPCs: BCC-iECAs; BCC-ARAI. Será ainda possível combinar qualquer um dos três referidos fármacos com diuréticos do tipo tiazidas, que não demonstraram impacto nas EPCs.

A linha verde descontínua representa a associação que pode ser útil (com algumas limitações). Esta é uma associação entre dois fármacos que não demonstraram benefícios em relação às referidas células (tiazidas e BB). Combinações possíveis mas menos testadas são representadas pelas linhas pretas descontínuas. A linha vermelha sinaliza a única associação não recomendada pelo duplo bloqueio do eixo RAA: a associação entre ARAII e iECAs, apesar de ambas serem benéficas a nível das EPCs.

Figura 2| Associações de fármacos anti-hipertensores



Fonte: Adaptado de referência nº 50

Esta revisão sistemática apresenta algumas limitações entre as quais: [1] poucos fármacos representativos de cada classe, [2] populações com fatores de risco cardiovascular heterogêneos, [3] número limitado de pacientes por estudo, [4] tempos de *follow-up* diferentes, [5] diferentes protocolos de isolamento de EPCs e de avaliação de *outcomes* ou [6] não ter sido realizada a avaliação da qualidade dos estudos e do risco de viés com metodologia adequada.

Como pontos fortes desta revisão sistemática de 19 estudos com 862 pacientes no total, podemos referir: a inclusão apenas de estudos clínicos, *randomizados e controlados*.

Conclusão

Nos últimos anos, tem sido sugerido que os vários fármacos anti-hipertensores além de reduzirem a TA, podem influenciar positivamente as EPCs (efeito pleiotrópico) e assim influenciar a história natural da HTA.

Relativamente aos iECAs, a revisão efetuada apontou para uma melhoria quantitativa e funcional das EPCs na maioria dos estudos com ramipril e perindopril.

Os resultados relativos aos ARAII demonstraram um efeito de classe mais consensual, evidenciando uma melhoria da função e número de EPCs com todos os fármacos usados.

Outra classe terapêutica que demonstrou benefícios perante as referidas células foram os BCC.

Com efeitos inertes relativos às EPCs temos as seguintes classes farmacológicas: os diuréticos e os BB.

Existem ainda os nitratos orgânicos. Alguns estudos indicam que o DNI não melhora a função nem o número das EPCs. Outros fármacos da mesma classe, têm impacto positivo tais como o PETN (quantitativamente e qualitativamente) e o NTG (apenas quantitativamente).

Em conclusão, vários fármacos têm os seus próprios mecanismos para atuarem nos alvos farmacológicos das EPCs. Serão necessários no futuro mais estudos, provavelmente com critérios mais unificados, para confirmar as conclusões supracitadas e explicar as possíveis implicações clínicas.

No futuro, novas *guidelines* baseadas na importância das EPCs poderão ser desenvolvidas para fornecerem orientações para a terapia médica e personalizada da HTA guiada por biomarcadores.

Trabalho final - Mestrado integrado em Medicina

Agradecimentos

À memória da minha **Tia Elisa (Avó Faruck)**

Pela sua entrega, dedicação, apoio incansável, por acreditar sempre em mim e por continuar a inspirar-me.

À minha família, principalmente **pai** e **mãe**, sem os quais não seria possível percorrer este caminho, a minha eterna gratidão.

Ao **Prof. Dr. José Luís Blibernicht Ducla Soares** e ao **Dr. Jorge Manuel Arsénio dos Santos Ruivo**, por toda a disponibilidade, entusiasmo, paixão pelo ensino e dedicação aos alunos.

À **Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa** por me ter formado nesta nobre profissão e me ter ajudado a cumprir o sonho de ajudar o outro através do conhecimento. Ao melhor que esta Faculdade me deu, uma **família de amigos** principalmente aos **Crocodilos**.

Bibliografia

- 1- Boos, C.J., Lip, G.Y.H. and Blann, A.D. (2006) Circulating Endothelial Cells in Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, **48**, 1538–1547.
- 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;275:964–967.
- 3- Yoder, M.C. (2015) Human Endothelial Progenitor Cells. 2015.
- 4- Kawamoto, A., & Losordo, D. W. (2008). Endothelial Progenitor Cells for Cardiovascular Regeneration. *Trends in Cardiovascular Medicine*, *18*(1), 33–37. <http://doi.org/10.1016/j.tcm.2007.11.004>
- 5- Albrecht M. Müller, Alexander Medvinsky, John Strouboulis, Frank Grosveld, Elaine Dzierzakt (1994), Development of hematopoietic stem cell activity in the mouse embryo *Immunity*, Volume 1, Issue 4, Pages 291-301
- 6- Zengin, E. (2006). Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development*, *133*(8), 1543–1551. <http://doi.org/10.1242/dev.02315>
- 7- Caplice NM, Doyle B (2005) Vascular progenitor cells: origin and mechanisms of mobilization, differentiation, integration, and vasculogenesis. *Stem Cells Dev* **14**: 122–139. <http://dx.doi.org/10.1089/scd.2005.14.122>.
- 8- Yoshida, W. B. (2005). Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: Tratamento do futuro para isquemia crítica de membros? *Jornal Vascular Brasileiro*, *4*(4), 316–318. <http://doi.org/10.1590/S1677-54492005000400002>
- 9- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S (2001) Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*. **89**: E1–E7. <http://dx.doi.org/10.1161/hh1301.093953>
- 10- Schatteman GC, Dunnwald M, and Jiao C: Biology of bone marrow-derived endothelial cell precursors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H1.
- 11- Ingram DA, Mead LE, Tanaka H, Meade V, Fenoglio A, Mortell K, Pollok K, Ferkowicz MJ, Gilley D, Yoder MC (2004) Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells using human peripheral and umbilical cord blood. *Blood* **10**: 2752–2760. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-04-1396>.
- 12- Padfield, G.J., Bms, C., Mbc, H.B., Newby, D.E. and Mills, N.L. (2010) Understanding the Role of Endothelial Progenitor Cells in Percutaneous Coronary Intervention. *JAC*, **55**, 1553–1565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2009.10.070>.
- 13- Kiewisz, J., Kaczmarek, M.M., Pawlowska, A. and Kmiec, Z. (2016) Endothelial progenitor cells participation in cardiovascular and kidney diseases: a systematic review. *Acta Biochim Pol.*, **63**, 475–82.
- 14- Urbich C and Dimmeler S: Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95: 343.
- 15- Murohara T. Therapeutic vasculogenesis using human cord blood-derived endothelial progenitors. *Trends Cardiovasc Med*. 2001;11:303–307

- 16- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001;89:1e–7e.
- 17- Fadini GP, Miorin M, Facco M, et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1449–57.
- 18- Pirro M, Schillaci G, Menecali C, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitors and HOXA9 expression in CD34⁺ cells of hypertensive patients. *J Hypertens* 2007;25:2093–9.
- 19- Chironi G, Walch L, Pernollet MG, et al. Decreased number of circulating CD34⁺KDR⁺ cells in asymptomatic subjects with preclinical atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2007;191:115–20.
- 20- Hristov, M., Erl, W. and Weber, P.C. (2003) Endothelial progenitor cells: Mobilization, differentiation, and homing. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **23**, 1185–1189.
- 21- Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348:593–600.
- 22- Conditions, W., Chen, Z., Herrmann, S.M.S., Zhu, X., Jordan, K.L., Gloviczki, M.L., et al. (2015) Endothelial Progenitor Cells Preserved Function of Late-Outgrowth Endothelial Cells in Medically Treated Hypertensive Patients Under. 2015: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03720
- 23- Fadini, G.P. and Avogaro, A. (2010) Cell-based methods for ex vivo evaluation of human endothelial biology. **39**, 12–21.
- 24- Aragona, C.O., Imbalzano, E., Mamone, F., Cairo, V., Gullo, A. Lo, Ascola, A.D., et al. (2016) Endothelial Progenitor Cells for Diagnosis and Prognosis in Cardiovascular Disease. **2016**.
- 25- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*. 2001;89:e1–e7.
- 26- Peng LH, Tsang SY, Tabata Y, and Gao JQ: Genetically- manipulated adult stem cells as therapeutic agents and gene delivery vehicle for wound repair and regeneration. *J Control Release* 2012;157: 321.
- 27- Bahlmann, F. H., Groot, K. De, Mueller, O., Hertel, B., Haller, H., & Fliser, D. (2005). Stimulation of Endothelial Progenitor Cells A New Putative Therapeutic Effect of Angiotensin II Receptor Antagonists. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000159191.98140.89>
- 28- Balaji S, Vaikunth SS, Lang SA, Sheikh AQ, Lim FY, Crombleholme TM, and Narmoneva DA: Tissue-engineered provisional matrix as a novel approach to enhance diabetic wound healing. *Wound Repair Regen* 2012; 20: 15.
- 29- Polonia, J., Martins, L., Pinto, F. and Nazare, J. (2014) Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension and salt intake in Portugal. *Journal of Hypertension*, **32**, 1211–1221.
- 30- Hebert PR, Moser M, Mayer J, Glynn RJ, Hennekens CH. Recent evidence on drug therapy of mild to moderate hypertension and decreased risk of coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1993; 153:578–581.

- 31- Cangiano, E., Marchesini, J., Campo, G., Francolini, G., Fortini, C., Carra, G., ... Ferrari, R. (2011). ACE Inhibition Modulates Endothelial Apoptosis and Renewal via Endothelial Progenitor Cells in Patients with Acute Coronary Syndromes, *11*(3), 189–198.
- 32- Endtmann, C., Ebrahimian, T., Czech, T., Arfa, O., Laufs, U., Fritz, M., ... Commentary, S. E. (2011). and Function In Vitro and In Vivo Implications for Vascular Regeneration. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.169193>
- 33- Cacciatore, F., Bruzzese, G., Vitale, D. F., Liguori, A., Nigris, F. De, Fiorito, C., ... Donatelli, F. (2011). Effects of ACE inhibition on circulating endothelial progenitor cells , vascular damage , and oxidative stress in hypertensive patients, 877–883. <https://doi.org/10.1007/s00228-011-1029-0>
- 34- Sun, J., Zhai, L., Li, Q., Ye, J., Kang, L., Xie, J., & Xu, B. (n.d.). Effects of ACE inhibition on endothelial progenitor cell mobilization and prognosis after acute myocardial infarction in type 2 diabetic patients, 665–673. [https://doi.org/10.6061/clinics/2013\(05\)14](https://doi.org/10.6061/clinics/2013(05)14)
- 35- Porto, I., Vito, L. Di, Maria, G. L. De, Dato, I., Tritarelli, A., Leone, A. M., ... Crea, F. (2009). Comparison of the Effects of Ramipril Versus Telmisartan on High-Sensitivity C-Reactive Protein and Endothelial Progenitor Cells After Acute Coronary Syndrome. *AJC*, *103*(11), 1500–1505. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.01.370>
- 36- Kampoli, A., Tousoulis, D., Pallantza, Z., Paterakis, G., Papageorgiou, N., Oikonomou, E., ... Stefanadis, C. (1990). Comparable effects of pioglitazone and perindopril on circulating endothelial progenitor cells , in fl ammatory process and oxidative stress in patients with diabetes mellitus. *International Journal of Cardiology*, *157*(3), 413–415. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.03.159>
- 37- Fearon, W. F., Okada, K., Kobashigawa, J. A., Kobayashi, Y., Luikart, H., Sana, S., ... Khush, K. (2017). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition Early After Heart Transplantation, *69*(23). <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.03.598>
- 38- Benndorf, R. A., Gehling, U. M., Appel, D., Maas, R., Schwedhelm, E., Schlagner, K., & Silberhorn, E. (2007). Endothelial Colony-Forming Cells during Antihypertensive, 338, 329–338. <https://doi.org/10.1089/scd.2006.0074>
- 39- Pelliccia, F., Pasceri, V., Cianfrocca, C., Vitale, C., Speciale, G., Gaudio, C., ... Mercurio, G. (2010). Angiotensin II receptor antagonism with telmisartan increases number of endothelial progenitor cells in normotensive patients with coronary artery disease: A randomized , double-blind , placebo-controlled study. *Atherosclerosis*, *210*(2), 510–515. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.12.005>
- 40- Suzuki, R., Fukuda, N., Katakawa, M., Tsunemi, A., Tahira, Y., Matsumoto, T., ... Soma, M. (2013). Effects of an Angiotensin II Receptor Blocker on the Impaired Function of Endothelial Progenitor Cells in Patients With Essential Hypertension, 1–7. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpt208>
- 41- Fujimura, N., Noma, K., Hata, T., Soga, J., Hidaka, T., Idei, N., ... Study, R. (2009). Mineralocorticoid Receptor Blocker Eplerenone Improves Endothelial Function and Inhibits Rho-Associated Kinase Activity in Patients With Hypertension. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *91*(2), 289–297. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.227>
- 42- Ciuceis, C. D. E., Pilu, A., Rizzoni, D., Porteri, E., Muiesan, M. L., Salvetti, M., ... Rosei, E. A. (2011). Effect of antihypertensive treatment on circulating endothelial progenitor cells in patients with mild essential hypertension, (October 2010), 77–83. <https://doi.org/10.3109/08037051.2010.535973>

- 43- Peixiao, S., Ningyuan, F., & Haiya, W. (2016). Lercanidipine effect on circulating CD34 + progenitor cells in elderly patients: a randomized study, 7995(October). <https://doi.org/10.1080/03007995.2016.1218834>
- 44- Double-blind, F. A., Trial, P., Sudano, I., Naegel, M., Roas, S., & Daniel, P. (2016). Clinical Investigations Vascular Effects of Eplerenone in Coronary Artery Disease With Preserved Ejection, 290, 285–290. <https://doi.org/10.1002/clc.22528>
- 45- Thum, T., Wiebking, V., Ertl, G., & Bauersachs, J. (2011). Endothelial Progenitor Cells and Endothelial Function, 15(4).
- 46- Difabio, J. M., Thomas, G. R., Zucco, L., Kuliszewski, M. A., Bennett, B. M., Kutryk, M. J., & Parker, J. D. (2006). Nitroglycerin Attenuates Human Endothelial Progenitor Cell Differentiation, Function, and Survival, 318(1), 117–123. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.102129.recovery>
- 47- Sugiura, T., Kondo, T., Kureishi-bando, Y., Numaguchi, Y., Yoshida, O., Dohi, Y., ... Murohara, T. (2008). Role of Endothelial Progenitor Cells. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.1119144>
- 48- Kandavar, R., Higashi, Y., Chen, W., Blackstock, C., Vaughn, C., Sukhanov, S., ... Giles, T. D. (2011). The effect of nebivolol versus metoprolol succinate extended release on asymmetric dimethylarginine in hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension*, 5(3), 161–165. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2010.11.003>
- 49- Luo, S., Xia, W., Chen, C., Robinson, E.A. and Tao, J. (2016) Endothelial progenitor cells and hypertension: current concepts and future implications. 2016: 10.1042/CS20160587.
- 50- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al. (2013) 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 34, 2159–2219.