

**Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra**



Mestrado em Cardiopneumologia

Especialidade em Arritmologia

**Diagnóstico de Rejeição por análise de  
Potenciais Tardios em doentes  
Transplantados ao Coração**

Vítor José Nogueira Mendes

**Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra**



Mestrado em Cardiopneumologia

Especialidade em Arritmologia

# **Diagnóstico de Rejeição por análise de Potenciais Tardios em doentes Transplantados ao Coração**

Aluno: Vítor José Nogueira Mendes

Orientador: Prof. Doutor Telmo António dos Santos Pereira

Orientador: Dr. Vítor Alberto Azevedo Matos

Coimbra, 2014

***“Pedras no caminho? Guardo todas, um dia  
vou construir um castelo”*** Fernando Pessoa

## Agradecimentos

A elaboração desta dissertação não teria sido possível sem a colaboração e estímulo de diversas pessoas ao longo destes vários meses de trabalho. Manifesto, por isso os meus sinceros agradecimentos a todos.

Em primeiro lugar, ao Prof. Doutor Telmo Pereira, para quem todos os agradecimentos são poucos. Pelo empenho, motivação, supervisão, apoio na componente estatística, e sobretudo pela disponibilidade que sempre demonstrou ao longo da realização deste trabalho.

Ao Dr. Vítor Matos pela amizade, experiência, orientação e fornecimento de preciosos conhecimentos científicos ao longo de todo o processo de investigação.

Ao Prof. Doutor Manuel Antunes, Diretor do Centro de Cirurgia Cardiorácica, do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pela gentileza e facilidade que me proporcionou na recolha dos dados.

Ao Dr. Manuel Baptista e à Enf. Marta Costa, pela amizade e pela ajuda e disponibilidade na recolha dos dados.

Ao Dr. António Ribeiro, Perfusionista Chefe do Centro de Cirurgia Cardiorácica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pela amizade, pelo apoio, pela experiência e esclarecimento de dúvidas fornecidos ao longo da investigação.

À Dr.<sup>a</sup> Patrícia Paiva, Perfusionista Sénior do Centro de Cirurgia Cardiorácica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pela amizade, pela formação humana, técnica e esclarecimento científico dados ao longo da investigação.

Aos meus restantes colegas Perfusionistas, Dr. Bruno Rodrigues, Dr.<sup>a</sup> Sofia Santos, Dr. Cândido Cerca e Dr.<sup>a</sup> Catarina Lopes, pela amizade, ajuda e apoio.

Aos Enfermeiros Dora Ledo, João Duarte e Maria Loureiro pela amizade e constante motivação fornecida.

Ao Dr. Carlos Pinto pela amizade e esclarecimento científico.

À minha família por todo o apoio, ajuda, compreensão e carinho que sempre demonstraram.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta me motivaram a realizar este trabalho.

## Índice

Agradecimentos.....	III
Índice de Figuras .....	V
Índice de Gráficos.....	VI
Índice de Quadros .....	VII
Índice de Tabelas .....	VIII
Resumo.....	XI
Abstract .....	XII
INTRODUÇÃO .....	13
Parte I – Enquadramento Teórico.....	15
Capítulo I - Transplante Cardíaco .....	16
1.1 Fisiologia Do Coração Transplantado.....	20
Capítulo 2- Imunobiologia do Transplante Cardíaco .....	23
2.1 Elementos Antigénicos do Transplante .....	24
2.2 Testes de Histocompatibilidade.....	26
2.3 Rejeição .....	27
2.3.1 Rejeição mediada por anticorpos.....	28
2.3.2 Rejeição Aguda .....	28
2.3.3 Rejeição Crónica .....	30
2.4 Fisiopatologia da Rejeição .....	31
2.5 Terapias Imunossupressoras em Transplantação Cardíaca.....	36
Capítulo 3 - Métodos de Diagnóstico da rejeição.....	39
3.1- Potenciais Tardios como preditores de rejeição .....	41
Parte II – Contribuição Pessoal .....	50
I – Conceptualização do Estudo .....	51
II – Material e Métodos .....	52
1. Amostra.....	52
2. Procedimento.....	53
3. Tratamento Estatístico .....	54
III. Resultados.....	55
IV – Discussão e Conclusões .....	99
Referências Bibliográficas .....	104
Anexos.....	112

## Índice de Figuras

Figura 1 - Número de intervenções por instituição .....	17
Figura 2 - Número total de Transplantes cardíacos realizados em Portugal .....	18
Figura 3 - Transplante Cardíaco Heterotópico .....	19
Figura 4 - Técnica de Shumway .....	20
Figura 5 - Técnica Anastomose Bicava .....	20
Figura 6 - Mecanismos da Rejeição aguda .....	29
Figura 7 - Mecanismos da Rejeição crónica .....	31
Figura 8 - Mecanismos das via de reconhecimento de antigénios .....	33
Figura 9 - Reações imunológicas inerentes ao processo de reconhecimento de linfócitos .....	34
Figura 10 - QRS médio após aplicação do método “ <i>signal averaging</i> ” no domínio do tempo .....	43
Figura 11 - Posicionamento dos elétrodos .....	44

## Índice de Gráficos

Gráfico 1: Curva ROC referente à associação da Fibrose com a Rejeição aguda.....	82
Gráfico 2: Curva ROC referente à associação entre os critérios da ACC com a Rejeição pm1 .....	92
Gráfico 3: Curva ROC referente à associação entre o SCORE1 com a Rejeição pm1 .....	95
Gráfico 4: Curva ROC referente à associação entre o SCORE2 com a Rejeição pm1. ....	96
Gráfico 5: Curva ROC referente à associação entre o SCORE3 com a Rejeição pm1 .....	97

## Índice de Quadros

Quadro 1: Terminologia usada em transplantação .....	24
Quadro 2: Classificação da rejeição celular aguda segundo a ISHLT.....	30
Quadro 3. Critérios de normalidade do ECG de alta resolução no domínio do tempo para os Potenciais Tardios. ....	44
Quadro 4: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e o diagnóstico de Potenciais Tardios segundo os diversos autores .....	113
Quadro 5: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios auriculares, segundo os diversos autores.....	114
Quadro 6: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios ventriculares segundo os diversos autores.....	115
Quadro 7: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição baseado na totalidade das Biópsias e o diagnóstico de Potenciais Tardios segundo os diversos autores.....	116
Quadro 8: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição baseado na totalidade das Biópsias realizadas, e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios auriculares, segundo os diversos autores. ....	117
Quadro 9: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição, atendendo à totalidade das Biópsias realizadas, e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios ventriculares segundo os diversos autores. ....	118



## Índice de Tabelas

Tabela 1: Caracterização demográfica da amostra .....	55
Tabela 2: Caracterização clínica da população geral.....	56
Tabela 3: Caracterização clínica baseada nos Fatores de risco, antecedentes e comorbidades .....	57
Tabela 4: Avaliação da Fração de Ejeção .....	58
Tabela 5: Caracterização demográfica dos doadores.....	59
Tabela 6: Distribuição da população relativamente aos tempos cirúrgicos e interrupção da CEC .....	60
Tabela 7: Análise sanguínea no dia do registo (Bioquímica sérica).....	61
Tabela 7.1: Análise sanguínea no dia do registo (Hemograma) .....	62
Tabela 8: Caracterização hemodinâmica .....	63
Tabela 9: Resultado da Biópsia Endomiocárdica no dia do registo .....	64
Tabela 10: Avaliação Ecocardiográfica após Biópsia .....	64
Tabela 10.1: Avaliação valvular por ecocardiograma após Biópsia .....	65
Tabela 11: Avaliação dos parâmetros eletrocardiográficos.....	66
Tabela 12: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (Potenciais Tardios) .....	67
Tabela 12.1: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (VFC -RR) .....	68
Tabela 12.2: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (VFC - QT).....	69
Tabela 13: Comparação das variáveis clínicas em função do diagnóstico de Rejeição aguda.....	70
Tabela 14: Comparação das populações em função da medicação imunossupressora .....	71
Tabela 15: Comparação das populações em função das pressões direitas .....	72
Tabela 16: Comparação das populações tendo em conta as análises clínicas (Bioquímica sérica).....	73
Tabela 16.1: Comparação das populações tendo em conta as análises clínicas (Hemograma) .....	74

Tabela 17: Comparação das populações tendo em conta a análise ecocardiográfica .75	
Tabela 18: Comparação das populações tendo em conta a análise eletrocardiográfica .....	76
Tabela 19: Comparação das populações quanto à presença de fibrose miocárdica ...	76
Tabela 20: Força de associação entre a rejeição e a presença de fibrose no ECG .....	77
Tabela 21: Comparação das populações tendo em conta os valores das resistências pulmonares .....	77
Tabela 22: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (Potencias Tardios) .....	78
Tabela 23: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (VFC- RR).....	79
Tabela 23.1: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (VFC- QT) .....	80
Tabela 24: Regressão Logística univariada dos parâmetros que apresentaram diferenças significativas em função do diagnóstico de Rejeição aguda .....	81
Tabela 25: Número de Biópsias realizadas com rejeição até ao dia do registo. ....	83
Tabela 26: Severidade máxima da rejeição na totalidade das Biópsias realizadas.....	83
Tabela 27: Comparação das variáveis clínicas em função do diagnóstico de Rejeição pm1 .....	84
Tabela 28: Comparação em termos de medicação imunossupressora atendendo o diagnóstico de Rejeição pm1 .....	85
Tabela 30: Comparação entre os grupos tendo em conta os sinais de fibrose no ECG .....	86
Tabela 31: Relação entre a fibrose e a Rejeição pm1 .....	86
Tabela 32: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG .....	86
Tabela 33: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (Potenciais Tardios) .....	87
Tabela 34: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (VFC- RR).....	88

Tabela 34.1: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (VFC- QT) .....	89
Tabela 35: Regressão Logística univariada dos parâmetros que apresentaram diferenças significativas em função do diagnóstico de Rejeição pm1 .....	91
Tabela 36: Valores estatisticamente significativos da Regressão logística univariada.	93
Tabela 37: Pontuação atribuída aos critérios incluídos no SCORE1 .....	94
Tabela 38: Pontuação atribuída aos critérios da RMS40 incluídos no SCORE2.....	96
Tabela 39: Relação entre a atribuição de pontos com a Probabilidade Diagnostico de Rejeição pm1 tendo em conta o SCORE3 .....	98

## Resumo

**Introdução:** A rejeição do transplante cardíaco leva a alterações miocárdicas que originam zonas de condução lenta e fragmentada. O ECG de alta resolução é um possível método de estratificação de risco para o diagnóstico da rejeição.

**Objetivo:** Elaborar um *Score* de Risco preditor de episódios de rejeição, recorrendo aos dados do ECG alta Resolução.

**População e Métodos:** Estudaram-se 28 pacientes transplantados ao coração. Numa primeira fase, tendo em conta o diagnóstico de Rejeição aguda, dividimos a nossa amostra em dois grupos (5 pacientes com rejeição e 23 pacientes sem rejeição). Foram recolhidos dados relativos a características clínicas, eletrocardiográficas, ecocardiográficas e hemodinâmicas dos pacientes no dia do registo. Obtiveram-se dados relativos às Biópsias anteriores, que numa segunda fase, permitiram dividir a amostra tendo em conta o diagnóstico de rejeição em pelo menos uma Biópsia realizada durante o período de seguimento (18 pacientes com rejeição e 10 sem rejeição).

**Resultados:** Para a Rejeição aguda, (prevalência = 17.9%), verificamos que o único critério a revelar associação foi a fibrose miocárdica, evidenciando um aumento do risco de rejeição aguda 19 vezes maior quando presente no ECG. Esta variável demonstrou uma forte capacidade para discriminar os doentes com e sem rejeição (área sob a curva=0.81; p=0.03). Para a Rejeição pm1, (prevalência=64.2%), um maior número de variáveis demonstrou associação com este quadro. Formulámos um *Score*, constituído pelas variáveis: fibrose, LAS40 e RMS40, aplicado aos 28 elementos da nossa amostra. A associação de fibrose miocárdica (no ECG), valores crescentes da LAS40 e valores decrescentes da RMS40 (no ECG de alta resolução), tem uma excelente capacidade para distinguir os doentes com e sem rejeição (área sob a curva= 0.82; p <0.01), assumindo um ponto de corte de sensibilidade=83.3% e especificidade=60%.

**Conclusão:** O ECG de alta resolução é uma ferramenta eficaz para distinguir os doentes com e sem rejeição. Apesar da sua utilidade estar camuflada para a Rejeição Aguda, apresenta grande valor na previsão de pelo menos um processo de rejeição tendo em conta um follow-up de 8 anos (Rejeição pm1). Julgamos ser útil a incorporação do nosso *Score* de Probabilidades, para o estudo dos doentes transplantados ao coração na prática clínica diária.

## Abstract

**Introduction:** Heart transplant rejection leads to morphological changes that explains the presence of slow and fragmented conduction. High resolution EKG is a potential promising risk stratification method in the diagnosis of rejection.

**Goal:** Develop a Risk Score to predict episodes of rejection, using high resolution EKG information;

**Population and methods:** We studied 28 heart transplant patients. First, we divided our sample taking into account the diagnosis of acute rejection into two groups (5 patients with rejection and 23 patients without rejection). The data collected was based on clinical, electrocardiographic, echocardiographic data and hemodynamic characteristics on the same day of endomyocardial biopsy. We obtained data on the results of biopsies performed during the clinical follow-up period which allowed, in a second phase, the same division has been given the diagnosis of rejection in at least one biopsy performed on the follow-up period (18 patients with rejection and 10 without rejection).

**Results:** Taking into account to the diagnosis of Acute Rejection (prevalence = 17.9%), we found that the only criteria could be associated with it was the myocardial fibrosis, an increased risk of acute rejection 19 times greater when present in conventional EKG tracings. This variable revealed a strong ability to distinguish between patients with and without rejection (area under the curve = 0.81;  $p = 0.03$ ). In patients having at least one episode of rejection, (prevalence = 64.2%), a greater number of variables were associated with this feature. We formulated a Score, including the variables fibrosis, LAS40 and RMS40, and applied it to the 28 elements of our sample. We noted that in the presence of myocardial fibrosis, associated with increasing values of LAS40 and the decreasing values of RMS40, the score has an excellent ability to distinguish patients with and without rejection (area under the curve = 0.82;  $p < 0.01$ ), assuming a cut-off point of sensitivity = 83.3% and specificity = 60%.

**Conclusion:** The evaluation of High Resolution EKG proved to be an effective tool to distinguish patients with and without rejection. Despite of its usefulness be masked for Acute Rejection, this technique have shown to have good value in the prediction of at least one rejection process, taking into account a follow-up of 8 years (pm1 Rejection). We think that it would be useful to implement our Probability Score to study rejection in cardiac transplanted patients in the daily practice.

## INTRODUÇÃO

Atualmente a rejeição é uma das principais causas de morte nos doentes transplantados ao coração. Caracterizada por um conjunto de respostas inflamatórias de cariz auto imune, levam a alterações morfofuncionais, aumentando a suscetibilidade a arritmias e posteriormente à perda do enxerto.

Segundo a *International Society for Heart and Lung Transplantation* (ISHLT), 21 a 30% dos doentes transplantados ao coração desenvolvem pelo menos um processo de rejeição durante o primeiro ano após o transplante, sendo responsável por 6% da mortalidade nos primeiros 30 dias. No Centro de Cirurgia Cardiorácica dos Hospitais da Universidade de Coimbra a Prevalência de rejeição é de 10% em 8.5 anos de seguimento clínico.

Vários estudos demonstraram que o uso de terapias imunossupressoras reduzem a incidência de rejeição. Contudo, embora estes estudos comprovem a eficácia destas drogas na prevenção da rejeição, o diagnóstico deste quadro permanece um verdadeiro desafio.

A Biópsia Endomiocárdica do ventrículo direito é o método padrão para o diagnóstico da rejeição, todavia, está dependente do comprometimento do septo interventricular superior direito (zona preferencial para a remoção dos fragmentos) e é um método invasivo com morbilidades inerentes.

De forma a colmatar as limitações da Biópsia endomiocárdica, estão a ser desenvolvidas novas estratégias efetivas no diagnóstico da rejeição.

O Eletrocardiograma (ECG) de alta resolução surge, neste contexto como um possível método de estratificação de risco promissor para o diagnóstico da rejeição. É relativamente barato e de fácil aplicação clínica. Tem como principais finalidades melhorar a avaliação da onda P, da atividade do sistema His- Purkinje e detetar Potenciais Tardios (PT). Pensa-se que esta técnica possa identificar sinais originados pelas zonas de condução lenta, características dos processos de rejeição.

Devido às baixas amplitudes, estes potenciais são impossíveis de se observar num ECG convencional. Portanto, a principal função do ECG de alta resolução é reduzir o ruído

de sinal, conservando os sinais de alta frequência e de baixa amplitude mostrando uma fragmentação da atividade elétrica.

Segundo alguns autores, a análise de PT através do ECG de alta resolução tem um forte valor preditivo negativo independentemente da arritmia.

Outros consideram o ECG de alta resolução como sendo uma técnica de grande utilidade para a detecção da rejeição nos transplantes cardíacos.

## **PARTE I – ENQUADRAMENTO TEÓRICO**

---



## Capítulo I - Transplante Cardíaco

“A relação entre a parte e o todo obedece a um número ou proporção geométrica conhecida” (Livio, 2003).

Na antiguidade o número  $\Phi$  (*phi*) também apelidado de “número de ouro” ou “proporção de ouro” foi identificado como a “proporção” que descreve essa relação.

Ao longo dos tempos várias personalidades cederam aos encantos em torno deste número. Um deles foi Fibonacci que em 1202, com a elaboração da então conhecida sequência de Fibonacci percebeu a real essência deste algarismo.

Para Fibonacci “em todo o Universo está presente a marca ou a presença de Deus, responsável pelo fenômeno simétrico da natureza” (Livio, 2003).

Como tal, este processo de auto-organização também está presente num dos órgãos mais nobres do nosso corpo: o coração.

Em 2001, Torrent-Guasp demonstrou em “*The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping*” que a capacidade de contração do coração estava dependente da organização e orientação helicoidal das suas fibras (Guasp, 2001).

A relação harmoniosa entre cada miócito e o próprio órgão confere ao coração a capacidade única e regular de rodar sobre si mesmo, (obedecendo a eixos cartesianos XYZ), a cada batimento, garantindo uma função sistólica “perfeita”.

Com o desenvolvimento de inúmeros processos patológicos, que acarretam o estiramento das fibras musculares cardíacas, esta relação (gradualmente) deixa de ser perfeita, conduzindo à perda da funcionalidade do órgão.

Um destes processos patológicos diz respeito à insuficiência cardíaca.

Várias terapêuticas farmacológicas ou cirúrgicas convencionais têm sido adotadas no tratamento desta patologia, contudo, apesar de abrandarem o desenvolvimento natural da doença, conduzem a médio/longo prazo a uma depressão irreversível da função cardíaca.

A transplantação cardíaca surge neste contexto como a modalidade terapêutica de eleição para a insuficiência cardíaca avançada.

O primeiro transplante de coração foi realizado em Cape Town, África do Sul, por Barnard, em 3 de Dezembro de 1967 (Barnard, 1967). A esta intervenção histórica seguiram-se muitas outras em vários centros mundiais, porém com bastantes insucessos iniciais (Antunes, *et al.*, 2010).

Só com o desenvolvimento da Biópsia Endomiocárdica para diagnóstico de rejeição em 1974 e com a introdução da Ciclosporina, utilizada pela primeira vez em transplantação em 1981, se relançou novamente esta técnica.

Desde então, mais de cem mil pacientes foram submetidos à transplantação cardíaca em todo mundo, com resultados e sobrevivências impensáveis no início desta atividade (Antunes M. J., 2003) (Antunes, *et al.*, 2010).

Em Portugal, o primeiro transplante cardíaco foi realizado em Fevereiro de 1986, pela equipa de Queirós e Melo no Hospital de Santa Cruz, em Lisboa. Com o passar do tempo, outros centros como o Hospital Santa Marta, Hospital S. João e os Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC) passaram a realizar e a assumir esta atividade no nosso país. Esta última instituição é atualmente, a responsável por mais de 60% das intervenções feitas por ano, (Figuras 1 e 2) (Antunes M. J., 2013) (ASST, 2011).

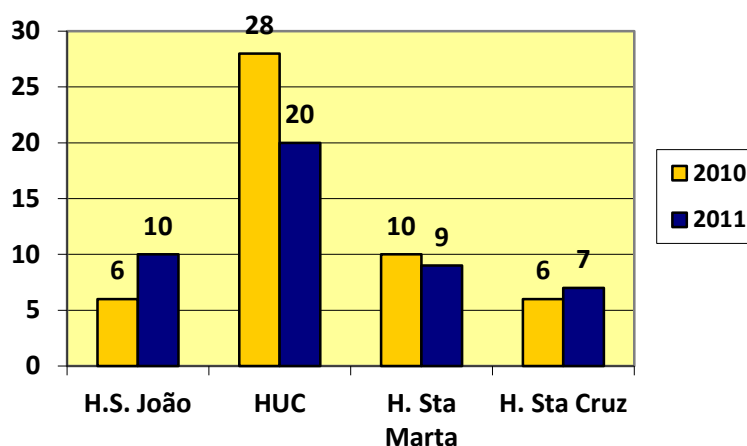
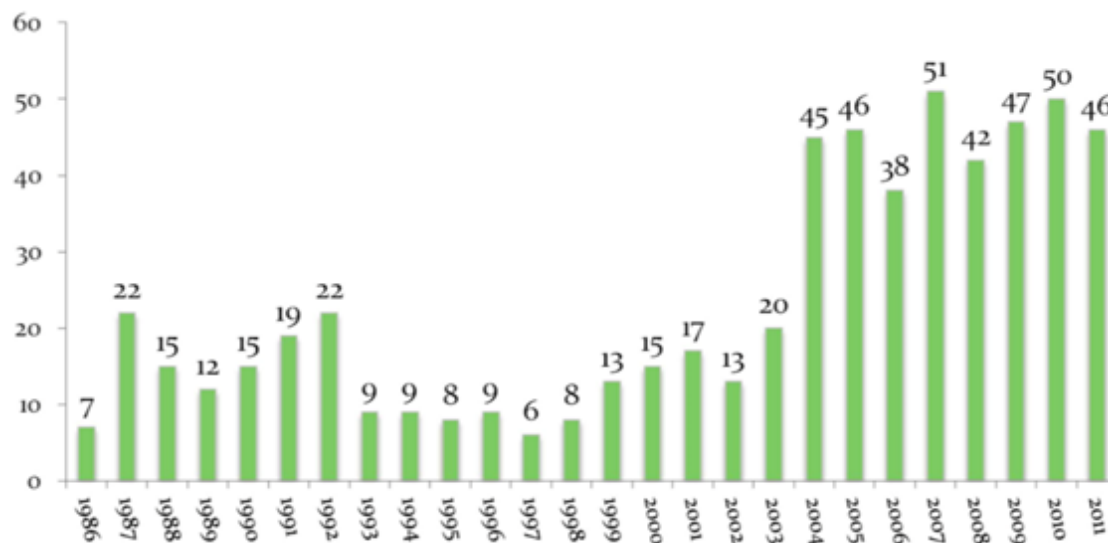


Figura 1 - Número de intervenções por instituição (ASST, 2011)

Desde 1986 foram transplantados cerca de 600 doentes no nosso país (Antunes M. J., 2013).



**Figura 2 - Número total de Transplantes cardíacos realizados em Portugal (ASST, 2011)**

O incremento acentuado desta atividade em Portugal, tal como no mundo, fez-se sentir, de tal forma que condicionou o aumento de candidatos a transplante, engrossando as listas de espera e resultando essencialmente na escassez de órgãos.

Para uma população de cerca de 10 milhões, as necessidades teóricas de transplantação do coração seriam de 100 intervenções anuais, (a taxa internacional sugerida é de 10 por milhão) (Taylor, *et al.*, 2008). Atualmente no nosso país, os centros em atividade conseguem satisfazer a maioria das necessidades.

Estima-se que mais de cinco mil transplantes anuais sejam realizados em todo o mundo, com uma sobrevivência superior a 85% no primeiro ano, 75% aos 5 anos e 60% aos 10 anos após a cirurgia (Taylor, *et al.*, 2008). Nos HUC, baseado num estudo que evidenciou a experiência de 8 anos, a sobrevivência a 1, 3, 5 e 8 anos foi de 90%, 86%, 81% e 70 % respetivamente (Batista, *et al.*, 2013).

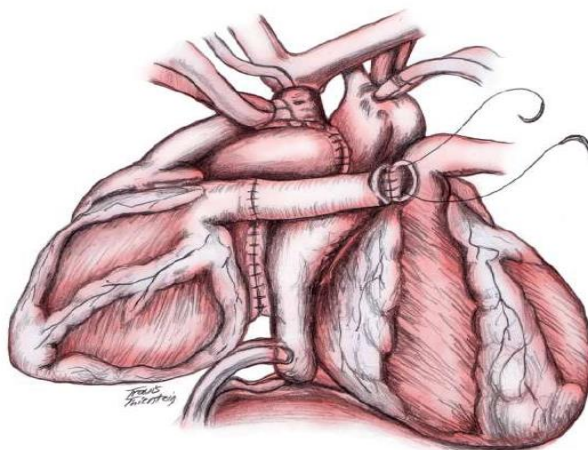
Segundo a ISHLT, a principal causa de morte nestes doentes transplantados ao coração é a infeção, porém a rejeição aguda, a doença vascular do enxerto e as neoplasias também contribuem para este desfecho (Stewart, *et al.*, 2005). Nos HUC, a mortalidade tardia é de 15.1%, sendo que 5% é devida às infeções e 4.6% a neoplasias (Batista, *et al.*, 2013).

Muito do sucesso alcançado na transplantação cardíaca deve-se à técnica cirúrgica adotada.

Genericamente existem dois grandes tipos de transplantes cardíacos (Coutinho & Jazbik, 2002):

1. Os Transplantes Heterotópicos;
2. Os Transplantes Ortotópicos.

O transplante Heterotópico é o menos frequente. Caracteriza-se por anastomosar o coração doado no coração nativo com o objetivo de conseguir superar a hipertensão pulmonar que, até então, se veio a desenvolver. Esta correção aumenta a estase sanguínea no coração doado, o que acarreta a sua disfunção a curto/médio prazo (Kadner, Chen, & Adams, 2000). Esta modalidade também é tida como opção quando o tamanho do coração doado é pequeno (figura 3).

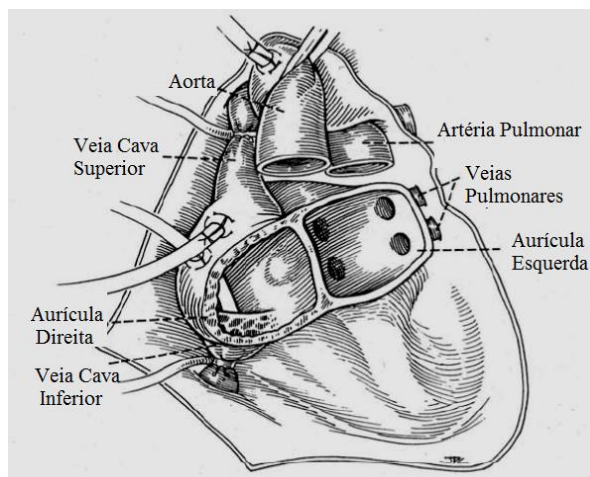


**Figura 3 - Transplante Cardíaco Heterotópico, adaptado de (Botta Jr, et al., 2014)**

O transplante Ortotópico é atualmente o mais frequente.

Existem pelo menos duas variações desta técnica, a técnica clássica de Shumway e a técnica de anastomose bicava (Jacob & Sellke, 2009).

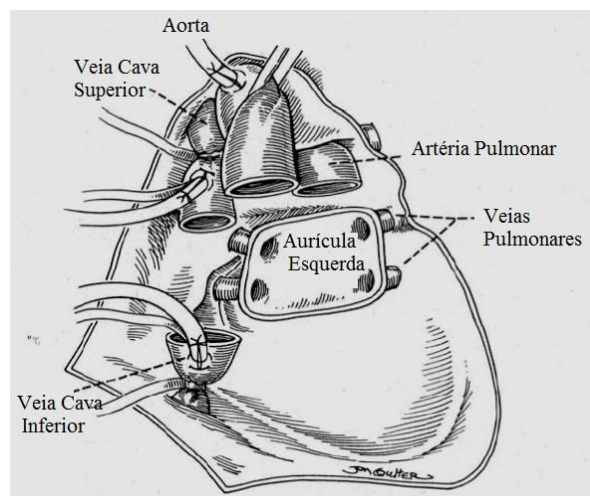
Na técnica de Shumway, (atualmente em desuso) os corpos das aurículas do recetor são conservados. As aurículas do dador são anastomosadas em cima dos corpos das aurículas do recetor, levando a um excesso de tecido que proporciona grandes cavidades auriculares (figura 4) (Jacob & Sellke, 2009).



**Figura 4 - Técnica de Shumway, adaptado de (Chassot, et al., 2012)**

Com a anastomose bicava, só a parede posterior da aurícula esquerda nativa permanece com as quatro veias pulmonares. O restante coração é removido.

A aurícula direita do “neo-coração” é anastomosada às veias cavas do recetor (Figura 5).



**Figura 5 - Técnica Anastomose Bicava, adaptado de (Chassot, et al., 2012)**

### 1.1 Fisiologia Do Coração Transplantado

Vários estudos foram realizados de modo a conseguir perceber quais os principais aspetos fisiopatológicos inerentes ao coração transplantado (Nellessen & Piérard, 2004).

Um desses aspetos controversos refere-se à desinervação instituída na realização do transplante.

Dependendo da técnica cirúrgica utilizada, essa desinervação pode ser mais ou menos pronunciada. Com a técnica clássica de Shumway existe um corte neuronal ao nível da junção aurículo ventricular, (figura 4), preservando assim mais as fibras parassimpáticas do que as simpáticas. Com a anastomose bicava existe a remoção completa da junção da veia cava superior com a inferior, levando, assim à desinervação completa do coração (Borow, *et al.*, 1985) (Bhatia, *et al.*, 1987).

Enquanto num indivíduo normal o débito cardíaco é controlado essencialmente pelo Sistema Nervoso Autónomo (SNA), isto é, pelo balanço simpático-parassimpático, no indivíduo transplantado, devido à desinervação completa, o débito cardíaco deixa de estar influenciado pela estimulação simpática e parassimpática, e pelo barorreflexo, passando então a estar exclusivamente dependente da (s):

- Pré carga (dependente do retorno venoso-lei de Frank-Starling);
- Catecolaminas circulantes (influenciam o inotropismo);
- Pós carga (através dos anteriores acarretam variações da fração de ejeção).

Deste modo, o débito cardíaco vai estar excessivamente condicionado pelo grau de enchimento da aurícula direita, (ou seja pelo retorno venoso) e pela frequência cardíaca, que apesar de estável vai apresentar-se elevada devido às catecolaminas circulantes e à desinervação parassimpática (Chassot, *et al.*, 2012).

A desinervação do coração transplantado é a característica essencial que diferencia o seu funcionamento de um coração normal.

Com o exercício, o coração desinervado atinge frequências praticamente semelhantes às do coração normal. No entanto, mal o esforço é interrompido, a frequência cardíaca continua a subir durante alguns minutos antes de abrandar muito progressivamente (Pope, *et al.*, 1980) (Nellessen & Piérard, 2004).

O volume ejetado aumenta pouco para esforços moderados. Para esforços maiores, a ejeção aumenta essencialmente por redução do volume telesistólico (reflexo do inotropismo). O fenómeno da escada de *Bowditch* (redução inicial seguida de um aumento gradual da contractilidade devido ao aumento da frequência cardíaca) está aumentado nos casos de desinervação, tendo uma importante influência clínica (Ricci, *et al.*, 1979) (Nellessen & Piérard, 2004).

O reflexo de *Brainbridge* (aumento da frequência cardíaca em resposta ao aumento de volume) está abolido nos doentes transplantados (Reitz, Dong Jr., & Stinson, 1971).

Vários estudos demonstraram que os doentes transplantados pela técnica bicava apresentavam maior probabilidade de desenvolver reinervação. Segundo estes autores a técnica cirúrgica clássica de Shumway mostrava evidências de regeneração apenas das fibras simpáticas, enquanto a técnica bicava evidenciava reinervação tanto simpática como parassimpática (Bhatia, *et al.*, 1987).

Tal facto constitui importância uma vez que só com uma reinervação completa se consegue controlar adequadamente o *status* hemodinâmico do doente.

Segundo a maioria dos autores, se existir reinervação, esta só se desenvolverá cerca de um ano após o transplante (Nellessen & Piérard, 2004).

A maioria dos estudos que procuraram demonstrar a realidade da reinervação do miocárdio após transplante cardíaco e o seu impacto clínico, utilizaram técnicas de imagiologia isotópica e confrontaram os resultados com os estudos funcionais em repouso e em esforço (Momose, *et al.*, 2000) (Martins da Silva, Vidigal Ferreira, & Morão Moreira, 2013).

## Capítulo 2- Imunobiologia do Transplante Cardíaco

Com a finalização da anastomose entre a aorta e o “neo-coração” segue-se a desclampagem da aorta. O sangue volta a perfundir as coronárias e o primeiro batimento cardíaco surge segundos depois.

Nesse instante, uma “nova vida” começa para cada doente submetido a transplante cardíaco. Batimento a batimento, o sangue expulso pelo possante e vigoroso ventrículo esquerdo irriga todo o corpo e lentamente o organismo, até então debilitado, volta a ganhar a força de outros tempos.

Infelizmente, este instante caracteriza também a maior limitação em transplantação, ou seja, o início da resposta imunológica do recetor, ao coração transplantado (histocompatibilidade).

A histocompatibilidade é definida como sendo uma medida de similaridade entre dois tecidos não aparentados, quando estão em contacto um com o outro. (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

O sucesso de qualquer transplante está na capacidade de controlar a resposta imune contra o enxerto. O objetivo é proporcionar a adaptação do transplante ao mesmo tempo que se evita a instalação de um quadro de rejeição.

Normalmente, as respostas imunológicas contra os tecidos ou órgãos transplantados são causadas por diferenças genéticas, ou seja, pelo grande polimorfismo entre os elementos antigénicos do complexo major de histocompatibilidade (MHC ou HLA) do dador e do recetor (Dragun & Rudolph, 2007).

Dependendo do tipo de antigénio e das diferenças genéticas (nomeadamente diferenças ao nível da espécie) entre dador e recetor, é adotada uma terminologia de forma a facilitar o entendimento desta temática (Quadro 1).



Relação entre o dador e o recetor	Prefixo aplicado ao transplante, antígeno ou anticorpo
Espécies Diferentes	Xeno-
Mesma espécie, mas constituintes genéticos diferentes	Alo-
Mesma linhagem (mesma constituição genética)	Iso-
Mesmo indivíduo	Auto-

Quadro 1: Terminologia usada em transplantação (Brent, 1996)

Assim, um *autoenxerto* (ou *autotransplante*) diz respeito ao transplante de tecidos de um local para outro no mesmo indivíduo. Normalmente, os indivíduos não desenvolvem uma resposta imunológica aos seus próprios tecidos, não sendo assim rejeitados. Um exemplo de autoenxerto é o transplante de pele que serve para tratar queimaduras, em que a pele de partes não afetadas do corpo é enxertada nas áreas queimadas, facilitando assim a cicatrização.

As diferenças imunogénicas também são evitadas quando o tecido é transplantado entre gémeos idênticos. Este tipo de transplante é chamado de *isoenxerto* (ou *isotransplante*).

Um transplante feito entre dois indivíduos geneticamente diferentes, mas da mesma espécie, é denominado *aloenxerto*, enquanto um transplante realizado entre dois indivíduos de espécies diferentes é intitulado por *xenoenxerto* (Brent, 1996).

Deste modo, quanto mais próximos forem dois indivíduos, geneticamente, melhor será aceite o transplante, pois mais similares serão os seus antígenos.

## 2.1 Elementos Antigénicos do Transplante

Os elementos antigénicos são os responsáveis pela aceitação do transplante por parte do recetor. Com base no seu polimorfismo, podem ser divididos em antígenos fortes (ou maiores) e antígenos fracos (ou menores).

Os antígenos maiores compreendem o HLA e o sistema ABO. Estes dois sistemas, presentes na maioria dos tecidos do organismo, foram identificados como sendo os mais importantes para a transplantação (Vella, 2010).

O principal alvo da resposta imunológica, na transplantação de órgãos, reside sobre as moléculas de HLA expressas na superfície das células alvo do órgão doado (alo-HLA) (Dragun & Rudolph, 2007).

Devido ao seu elevado polimorfismo, estas moléculas representam o maior obstáculo há aceitação do enxerto, uma vez que a probabilidade de encontrar dadores e recetores com HLA idênticos é relativamente pequena (Dragun & Rudolph, 2007) (Vella, 2010).

As moléculas de HLA constituem, portanto, os principais determinantes antigénicos para a rejeição ou aceitação do enxerto. Na ausência de terapêutica imunossupressora, a transplantação de órgãos entre indivíduos com HLA idênticos facilmente são aceites, enquanto nos indivíduos com HLA antigénico são inevitavelmente rejeitados (Eisen & Jessup, 2010).

O sistema ABO dos grupos sanguíneos também é de grande importância para a aceitação do transplante.

Inicialmente, uma contraindicação para o transplante era a presença de incompatibilidade ABO entre o dador e o possível recetor, pois, a presença de anticorpos pré formados específicos do dador rapidamente destruíam o aloenxerto (Vella, 2010). Atualmente, o principal método para contornar esta dificuldade consiste em protocolos de dessensibilização, como a plasmaforese (remoção de elementos do plasma sanguíneo) e protocolos de imunossupressão agressivos que resultam na remoção destes anticorpos (Shimmura, *et al.*, 2000).

A análise do sistema ABO é realizada sistematicamente, pois a presença de anticorpos naturais está envolvida em rejeições hiperagudas (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

Os antígenos menores dizem respeito aos peptídeos derivados de proteínas polimórficas, os quais têm características estruturais distintas do MHC, e são capazes de causar rejeição. Embora sejam chamados de antígenos menores, a sua importância na transplantação não pode ser minimizada, uma vez que a rejeição de enxertos pode ocorrer entre dadores e recetores com HLA idênticos (Dragun & Rudolph, 2007).

A identificação da incompatibilidade entre dador e recetor reduz assim, o risco de respostas imunes prejudiciais para o enxerto, que conduzem à sua rejeição. O tipo de testes utilizados para essa identificação depende do órgão transplantado e do período de tempo disponível para o realizar.

Cada tecido ou órgão doado tem características imunológicas próprias, que acarretam tempos de conservação diferentes entre a colheita e a transplantação propriamente dita.

A título de exemplo, o tempo de conservação para a transplantação cardíaca é de 4 horas, enquanto para o rim pode chegar às 24 horas (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

Deste modo, a possibilidade de realizar sofisticados métodos de identificação de incompatibilidades está dependente por um lado na capacidade de manter viável cada órgão a transplantar, e por outro na capacidade de tolerância de cada órgão à isquémia.

## **2.2 Testes de Histocompatibilidade**

Dois tipos de testes de histocompatibilidade podem ser realizados em função do tempo disponível: o “cross-match” entre o dador e o recetor é realizado rapidamente (6 a 8 horas), a tipagem HLA do dador é mais demorada (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

O cross-match permite detetar rapidamente anticorpos citotóxicos pré-formados circulantes através de uma técnica de linfotoxicidade, (técnica de referência), onde se faz a interação “in vitro”, de células do dador com soro do destinatário.

O cross-match positivo constitui uma contraindicação absoluta à realização do transplante, uma vez que está fortemente correlacionado com o desenvolvimento de rejeição hiperaguda e aguda (Book, *et al.*, 2005).

A tipagem HLA identifica os antigénios responsáveis pela incompatibilidade entre os tecidos do dador e do recetor. Na prática, uma tipagem HLA mínima é realizada no dador (HLA-A,-B,-DQ,-DR) com o objetivo de encontrar um recetor com tipagem HLA idêntica (Book, *et al.*, 2005) (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

A técnica de referência em serologia é a técnica de citotoxicidade que permite determinar a presença de antigénios na superfície das células, recorrendo a uma gama de anticorpos anti-HLA conhecidos (Middleton, 2002).

As técnicas de biologia molecular são atualmente desenvolvidas com dois níveis de resolução: ou por uma tipagem de nível genérico (equivalente à serologia) ou ao nível dos alelos (Dalva & Beksac, 2007) (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

Vários pacientes desenvolveram reações imunitárias dirigidas contra os anti-HLA, em particular depois de repetidas transfusões, depois de gravidezes interrompidas ou episódios de rejeições num primeiro transplante. A presença destes anticorpos constitui

um risco aumentado para a rejeição do enxerto, no entanto, não constitui uma contra indicação à realização do transplante. Ela complica a sobrevida do doente e a sobrevida do enxerto (Jackson & Zachary, 2008).

No período pós-transplante, a monitorização regular da taxa e a especificidade destes anticorpos constitui um marcador interessante de imunização do recetor em relação aos episódios de rejeição (Kolopp-Sarda, Malcus, & Kohler, 2008).

Para “quantificar” essas reações imunológicas aos anti-HLA é avaliada o Painel Imunológico (“*Panel Reactive Antibody*”) (PRA).

O PRA é uma técnica de citotoxicidade utilizada para avaliar o estado imunológico dos pacientes através da deteção de anticorpos anti-HLA presente no soro do recetor.

A técnica consiste em verificar a reação entre o soro do recetor e os tipos diferentes de HLA presentes num painel de células. Um estudo da PRA é considerado positivo quando é superior a 10%, ou seja, quando mais de 10% dos antígenos HLA reagem com o soro do recetor (Morris, *et al.*, 2013).

Assim sendo, para diminuir o risco de reações imunológicas do transplante, tenta-se encontrar uma histocompatibilidade máxima (ou seja, compatibilidade total) entre o dador e o recetor, recorrendo aos vários testes existentes. Contudo, devido à urgência inerente à execução do transplante, esta análise é difícil de realizar.

### **2.3 Rejeição**

A rejeição aguda do enxerto é um dos principais problemas na transplantação de órgãos sólidos e é caracterizada por um conjunto de reações humorais e/ou celulares.

Segundo o relatório de 2009 da ISHLT, 21 a 30% dos doentes transplantados ao coração desenvolvem pelo menos um processo de rejeição durante o primeiro ano após o transplante, sendo responsável por 6% da mortalidade nos primeiros 30 dias (Taylor, Meiser, & Webber, 2010).

Tendo em conta as características histopatológicas do enxerto, e com recurso à Biopsia Endomiocárdica, a rejeição pode ser classificada em ausente, rejeição mediada por anticorpos (AMR), rejeição aguda celular (1R,2R e 3R) e doença vascular do enxerto (Stewart, *et al.*, 2005).

Num estudo realizado nos HUC a uma população de 218 doentes transplantados ao coração, com um seguimento de 8,5 anos, verificou-se que de um total de 2756 Biópsias Endomiocárdicas, 278 (10%) apresentaram rejeição celular nos diversos graus de severidade (Batista, *et al.*, 2013).

Genericamente, a rejeição celular aguda é mediada pela resposta dos linfócitos T ao tecido do enxerto. A doença vascular do enxerto refere-se ao estreitamento luminal das artérias coronárias e ocorre, mais comumente, meses ou anos após o transplante. É atualmente o fator limitante na sobrevida do enxerto a longo prazo.

### **2.3.1 Rejeição mediada por anticorpos**

A AMR está sobretudo relacionada com a imunidade humoral mediada pelos anticorpos anti-HLA do recetor. A presença destes anticorpos nos vasos sanguíneos do enxerto vão ativar as proteínas do complemento, produzindo, por sua vez, uma série de modificações no endotélio que levam à oclusão desses vasos e à falta de irrigação sanguínea no órgão transplantado. Estas reações levam à destruição imediata e irreversível do enxerto (Eisen H. J., 2008)

Embora este tipo de rejeição ocorra geralmente nos primeiros meses ou anos após transplante, um subtipo raro, a rejeição hiperaguda, pode ocorrer dentro de minutos ou horas após transplante e é caracterizada por uma oclusão trombótica das vascularizações do enxerto.

Estes anticorpos são geralmente o resultado da exposição prévia do recetor aos aloantígenos, através de transfusões de sangue ou outras transplantações. Este tipo de rejeição pode ser prevenido recorrendo a análises de rotina antes da transplantação (testes de linfotoxicidade), as quais fazem a deteção de anticorpos contra as células do possível enxerto (Montagnat-Tatavin, 2012).

### **2.3.2 Rejeição Aguda**

A rejeição aguda é um processo de lesão do parênquima e da vascularização do enxerto que ocorre geralmente depois da primeira semana após a transplantação. Apesar da presença de anticorpos poderem contribuir para este processo, este tipo de rejeição está relacionado essencialmente à imunidade celular, uma vez que é predominantemente mediado pelos linfócitos T alorreativos contra os antígenos do enxerto. Depois da ativação dos linfócitos T, há produção de citocinas e de outras moléculas pró-

inflamatórias que, por sua vez, ativam e “recrutam” mais células inflamatórias, levando à destruição do enxerto. Ambas as células T CD4+ e T CD8+, em particular as CD8+ citotóxicas, são consideradas críticas neste tipo de rejeição. Atualmente, este tipo de rejeição é o mais bem controlado, devido à disponibilidade de várias drogas imunossupressoras (Figura 6) (Eisen H. J., 2008).

### Rejeição Aguda

- Poucos dias após o transplante
- Imunidade Celular (linfócitos T aloreativos contra os antígenos do enxerto)
- Resposta mediada por anticorpos pode contribuir para este processo

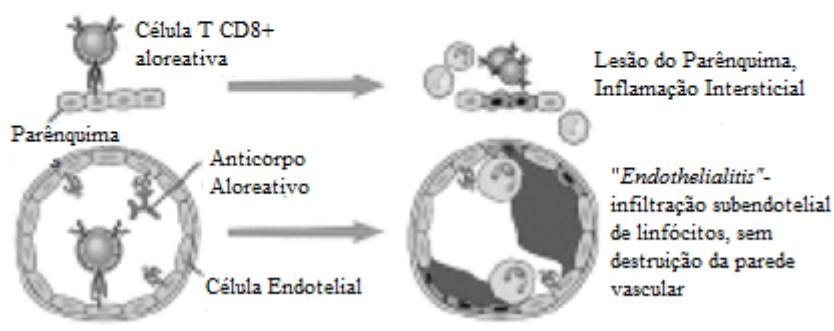


Figura 6- Mecanismos da Rejeição aguda, adaptado de (Eisen H. J., 2008)

Em 1990, a ISHLT desenvolveu a primeira classificação para determinar a rejeição celular com base na análise dos fragmentos retirados na Biópsia Endomiocárdica.

Em 2004 houve uma revisão desses critérios tendo, desde então, permanecido estes em vigor (Quadro 2). Estes critérios têm 4 níveis de rejeição, que vão desde a ausência de rejeição (0R) até à rejeição de alto grau (3R). O “R” significa revisito de modo a não serem confundidos com os critérios de 1990 (Stewart, *et al.*, 2005).

1990	2004
Grau 0 (sem rejeição) Grau 1A (rejeição aguda focal leve)	Grau 0R (sem rejeição aguda)
Grau 1B (rejeição aguda difusa leve) Grau 2 (rejeição aguda focal moderada)	Grau 1R (rejeição celular aguda leve de baixo grau): infiltrado intersticial e/ou perivascular com pelo menos 1 foco de lesão miocitária.
Grau 3A (rejeição aguda multifocal moderada)	Grau 2R (rejeição celular aguda, moderada, de grau intermédio): 2 ou mais focos de infiltrado associados a lesão miocitária.
Grau 3B (rejeição aguda difusa grave)	Grau 3R (rejeição celular aguda, grave de alto grau): infiltrado difuso com lesões multifocais de miócitos, com ou sem edema, hemorragia ou vasculite.
Grau 4 (rejeição aguda grave)	

Quadro 2: Classificação da rejeição celular aguda segundo a ISHLT.

### 2.3.3 Rejeição Crónica

A rejeição crónica é uma das maiores causas de rejeição de transplantes. Cerca de 25% a 65% dos enxertos são rejeitados durante os primeiros cinco anos após transplantação. De um modo geral, a rejeição crónica é caracterizada por persistente infiltração de leucócitos, lesão vascular, aterosclerose do enxerto e elevada deposição de matriz extracelular na rede coronária do enxerto, que levam a uma falha progressiva no funcionamento do transplante. Os linfócitos são considerados os componentes críticos na rejeição crónica e alguns estudos sugerem que as células T CD4+ e os linfócitos B podem ser mais importantes para o desenvolvimento da arteriosclerose do enxerto do que as células T CD8+. Há evidências de que este tipo de rejeição seja iniciado, e perpetuado, por mecanismos independentes de aloantígenos, isto é, apesar de existir influência de elementos do sistema imunológico, tal como na rejeição aguda, interfere também com mecanismos não imunológicos (Abbas & Lichtman, 2006).

Um destes mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de rejeição crónica diz respeito à lesão provocada pela isquemia/reperfusão do enxerto cardíaco. A lesão de isquemia/reperfusão, independente da presença de antígenos, pode começar a desenvolver-se desde o momento em que se realiza a colheita do enxerto, sendo portanto considerada uma das principais causadoras de disfunção inicial do órgão (Eisen H. J., 2008) (Chassot, *et al.*, 2012).

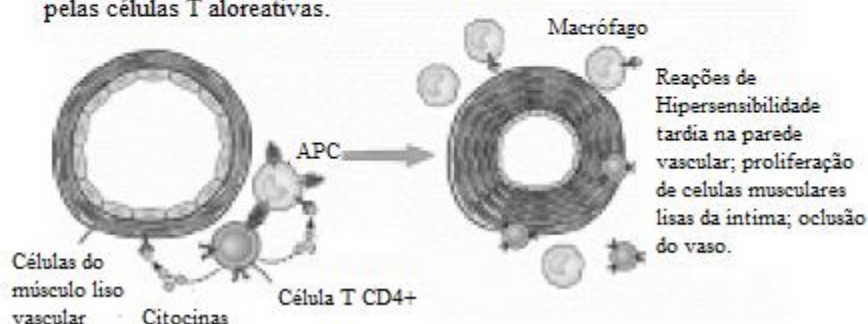
São vários os fatores que têm sido implicados na patogénese da lesão causada por isquemia/reperfusão. De um modo geral, os mecanismos de adesão/migração de

leucócitos, principalmente linfócitos T, macrófagos e neutrófilos, a elevada segregação de proteínas do sistema complemento, a libertação de citocinas, radicais livres de oxigénio e óxido nítrico, são tidos em conta pois exercem uma função predominante na lesão por isquemia/ reperfusão (Chassot, *et al.*, 2012).

Por um período de semanas ou meses, o resultado da ativação destas respostas vai originar a proliferação vascular de células musculares lisas que juntamente com o desenvolvimento de hiperplasia da “neo-intima” e deposição de matriz extracelular, acarretam a diminuição do lúmen vascular (isto é, vasculopatia do enxerto cardíaco). Esta lesão leva a um declínio gradual da função do enxerto levando posteriormente à perda do órgão (Figura 7) (Abbas & Lichtman, 2006) (Eisen H. J., 2008).

### Rejeição Crónica

- Meses a anos após o transplante
- Perda lenta e progressiva da função
- Proliferação de fibroblastos e de células vasculares, provavelmente devido à segregação de citocinas pelas células T aloreativas.



APC: Célula Apresentadora de Antígenos

Figura 7 - Mecanismos da Rejeição crónica, adaptado de (Eisen H. J., 2008)

## 2.4 Fisiopatologia da Rejeição

Formadas por cadeias peptídicas distintas (polimórficas), as moléculas de MHC, expressas na superfície das células endoteliais e nas células do parênquima do enxerto, têm muitas vezes associados peptídeos estranhos (antígenos) (Montagnat-Tatavin, 2012).

A presença de alo-antígenos MHC sobre o enxerto permite o reconhecimento destes por parte das células T, B e das células NK (Yerly, *et al.*, 2009).

O reconhecimento dos alo-antígenos por parte dos recetores das células B (BCR) e T (TCR) produzem diferentes resultados. Tanto os anticorpos como os recetores das



células T e B têm regiões altamente variáveis na sua conformação. Essas regiões só passam a ser específicas para o antígeno quando a célula é ativada.

Quando existe ativação dos linfócitos B, a produção de anticorpos específicos para os antígenos reconhecidos, é acompanhada pelo aumento da concentração dos componentes do sistema imunológico inespecífico no enxerto. A ativação das proteínas do complemento por ligação aos anticorpos desencadeia um conjunto de reações que levam à lesão vascular e à danificação do enxerto cardíaco; tal como os macrófagos e outras células do sistema imunológico que provocam a lise celular mediada pelos anticorpos (Yerly, *et al.*, 2009) (Montagnat-Tatavin, 2012).

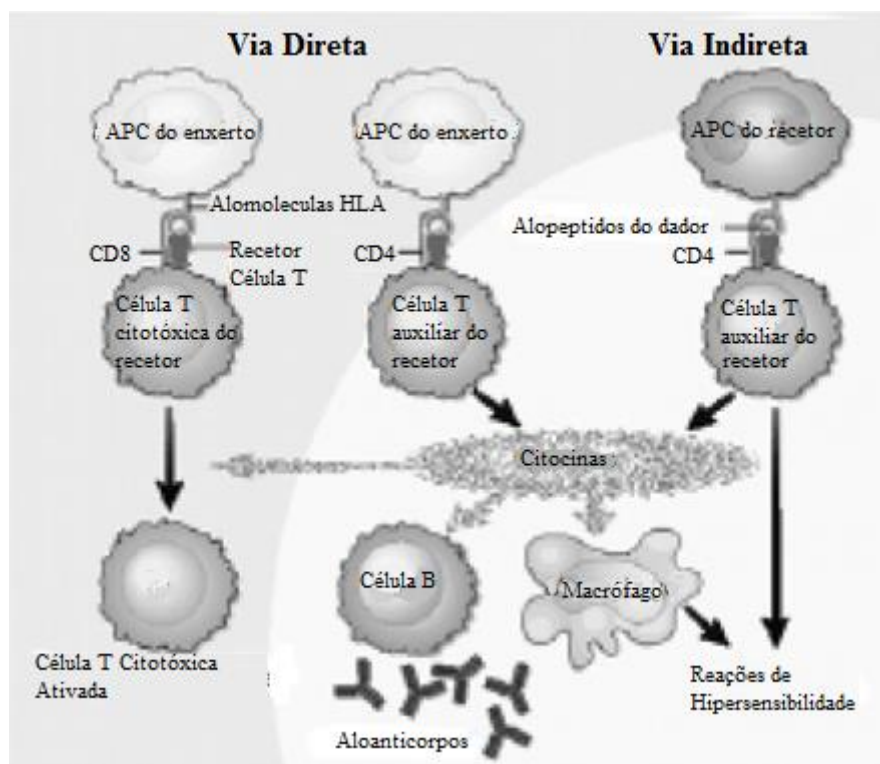
Deste modo, a produção de anticorpos e posterior reconhecimento pelas células imunológicas dizem respeito à rejeição humoral.

No entanto, estas células podem inicialmente reconhecer os antígenos em vez de reconhecerem os anticorpos produzidos para os mesmos. Assim, após fagocitose dos agentes estranhos por parte dos macrófagos, ou pelas células dendríticas, isto é, células apresentadoras dos antígenos (APC), uma sequência de material genético invasor é apresentado na superfície celular destas.

Os linfócitos T, por ação dos recetores das células T (TCR) vão ser os responsáveis por reconhecer estas moléculas estranhas assim que entrem em contacto com as APC que as expõem. Estes recetores são incapazes de reconhecer o antígeno livre e como tal, dependem da origem da APC. O reconhecimento pode ser feito pela via direta ou pela via indireta de reconhecimento (Figura 8) (Eisen H. J., 2008) (Montagnat-Tatavin, 2012).

Na via direta, os TCR dos linfócitos T identificam alo-moléculas do MHC presentes nas células APC do enxerto. A maior parte dos tecidos ou órgãos contêm as células APC residentes, tais como os macrófagos e as células dendríticas. Existe a possibilidade destas células migrarem para os nódulos linfáticos, após o transplante, sendo reconhecidas pelos linfócitos T do recetor (Eisen H. J., 2008).

Na via indireta, as células APC do recetor reconhecem as alo-moléculas provenientes do enxerto doado, processando-as e apresentando-as na superfície celular na forma de um complexo MHC-Peptídeo (Eisen H. J., 2008).



**Figura 8- Mecanismos das via de reconhecimento de antígenos, adaptado de (Eisen H. J., 2008)**

Deste modo, a ativação das células T pode ser feita pelas duas vias, podendo causar a rejeição do enxerto (rejeição celular).

Assim, quando os linfócitos T auxiliares (CD4+) são ativados por via direta ou indireta, existe produção e proliferação de citocinas (linfocinas e interleucinas) que estimulam a ativação de linfócitos T citotóxicos (CD8+), linfócitos B e macrófagos. Estes elementos por sua vez causam destruição do enxerto por lise direta das células, produção de anticorpos e reações de hipersensibilidade (Eisen H. J., 2008).

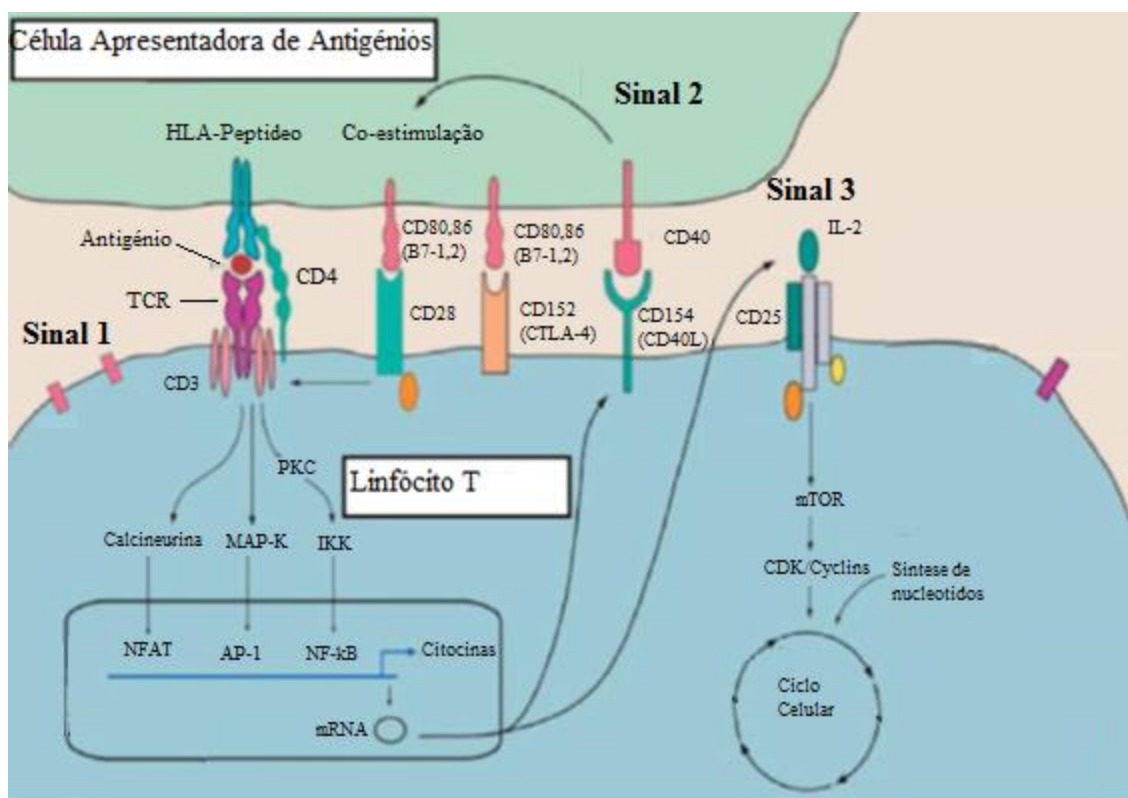
As células T CD8+, quando ativadas por via direta, destroem diretamente as células do enxerto. Em contra partida, quando ativadas por via indireta do reconhecimento, por intermédio dos linfócitos CD4+, não são capazes de destruir diretamente o enxerto, uma vez que reconhecem o MHC como sendo “seu”.

Visto isto, tem sido aceite que a ativação inicial das células T nos órgãos linfoides do recetor seja mediada principalmente pela via direta de reconhecimento, uma vez que as células APC do dador têm um tempo de vida limitado. Só numa fase posterior é que esta ativação progredirá no sentido da via indireta, a qual passará então a ter uma função predominante (Eisen H. J., 2008) (Montagnat-Tatavin, 2012).

Assim, deduz-se que a ativação dos linfócitos T CD8+, induzida por via direta do reconhecimento dos antígenos tenham uma função essencial na rejeição aguda dos enxertos, enquanto os linfócitos T CD4+, ativados por via indireta sejam mais responsáveis pela rejeição crônica e pela doença vascular do enxerto.

A contribuição relativa das diferentes vias de reconhecimento na rejeição dos enxertos ainda gera bastantes controvérsias, sendo possível que a sua função seja hierárquica e específica do tipo de enxerto (Montagnat-Tatavin, 2012).

Para facilitar o reconhecimento dos linfócitos T CD4+ e CD8+ pelos recetores da células T (TCR), a ativação destas células exige a existência de moléculas capazes de emitir sinais co-estimuladores para iniciar e para terminar as respostas imunológicas (Figura 9) (Vella, 2010).



CD: região determinante de complementaridade; PKC: Proteína Kinase C; IKK I Kappa B Kinase; NFAT, AP-1, NF-kB: fatores de transcrição do citoplasma para o núcleo; mRNA: ácido ribonucleico mensageiro; CDK/Cyclins: kinase dependente da ciclina.

**Figura 9 - Reações imunológicas inerentes ao processo de reconhecimento de linfócitos, adaptado de (Yerly, et al., 2009)**

Assim, o primeiro sinal é emitido quando existe a ligação do linfócito T aos antígenos presentes na superfície das células APC, por intermédio dos TCR. O segundo sinal de co-estimulação ocorre logo de seguida. Este sinal é o mais bem estudado e diz respeito às moléculas da família B7 expressas na superfície das células APC. As moléculas desta família, CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) induzem a co-estimulação das células T quando se ligam ao recetor CD28 e ao recetor CD152 (também conhecido por CTLA-4) (“*Cytotoxic T lymphocyte Antigen-4*”) (Bennett, 2010).

Com a ligação das moléculas da família B7 ao recetor CD28, a ativação de células T pela ligação com o TRC vai ser amplificada, levando ao aumento da produção de várias citocinas (como as IL-2), por intermédio das vias de transcrição do sinal, nomeadamente a via do Cálcio/Calcineurina, MAP-K (“*Mitogen Activated Protein Kinases*”), NF-kB (“*factor nuclear kB*”). A IL-2, em particular vai fixar-se sobre o seu recetor específico (CD25), levando à ativação da via da mTOR (“*Mammalian Target of Rapamycin*”), uma enzima inserida no processo de divisão celular, que inicia a proliferação e expressão de genes anti-apoptóticos por parte do linfócito T (efeito regulador positivo). Este efeito é mediado pelo terceiro sinal de co-estimulação (Bennett, 2010) (Montagnat-Tatavin, 2012).

Por outro lado, com a ligação das moléculas da família B7 ao recetor CTLA-4 existe inibição da produção de IL-2 e impedimento do ciclo celular (efeito regulador negativo) (Bennett, 2010).

Este equilíbrio entre a co-estimulação destes reguladores positivos e negativos da ativação dos linfócitos T controla a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência dos linfócitos T (Montagnat-Tatavin, 2012).

Este processo de co-estimulação é bem mais complexo do que aqui se apresenta. No entanto a maioria dos autores adota este modelo de 3 sinais para explicar a rejeição celular.

Assim, e de forma genérica:

- O sinal 1 refere-se à ligação do TRC ao MHC-peptídeo da APC;
- O sinal 2 refere-se à ligação dos co-estimuladores;
- O sinal 3 envolve a ligação da IL-2 ao seu recetor (CD25).

É com base nestes três sinais que as terapias imunossupressoras são prescritas. Sem a terapia médica apropriada, a rejeição aguda pode ocorrer dentro de alguns dias após transplante.

Uma melhor compreensão nesta área poderá levar ao desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas, para o controlo da rejeição de enxertos (Montagnat-Tatavin, 2012).

## **2.5 Terapias Imunossupressoras em Transplantação Cardíaca**

São várias as drogas imunossupressoras disponíveis para o tratamento de doentes após transplante. Sendo a redução dos riscos da rejeição o principal objetivo terapêutico do tratamento imunossupressor, deverá procurar-se um equilíbrio entre a dose-resposta destas substâncias de forma a aumentar a eficácia do tratamento, sem proporcionar o desenvolvimento de complicações (Montagnat-Tatavin, 2012).

Existem vários critérios de classificação destas drogas. Um destes critérios divide a maioria das drogas imunossupressoras usadas em transplantação em três grupos (Mueller, 2004) (Bennett, 2010) (Montagnat-Tatavin, 2012):

1. Inibidores da Calcineurina (ciclosporina, tacrolimus);
2. Os Antiproliferativos (azatioprina, micofenolato de mofetil (MMF), sirolimus);
3. Corticóides (glicocorticóides).

Os inibidores da calcineurina inibem a expressão da IL-2 pelas células T. A ciclosporina (CsA), a droga imunossupressora mais conhecida, tornou-se a opção terapêutica mais utilizada na maioria dos centros de transplantação em todo o mundo.

A CsA é um peptídeo cíclico natural e lipofílico. A sua ligação com a ciclifilina (uma proteína intracitoplasmática constituinte de todas as células, especialmente dos linfócitos T), inibe uma fosfatase ativada pelo cálcio, a Calcineurina, impedindo a transcrição da IL-2 e de outras linfocinas. Neste sentido, a CsA intervém num estado muito precoce da resposta imunológica, bloqueando o sinal de ativação dos linfócitos T auxiliares, prevenindo a sua proliferação e diferenciação em células citotóxicas (Mueller, 2004).

A avaliação da Ciclosporinémia (dosagem diária dos níveis séricos da CsA) deve ser realizada de forma a manter a função renal dentro dos parâmetros de normalidade. São

considerados níveis terapêuticos satisfatórios durante o primeiro ano, valores entre os 250-300 mg/ml.

Os antiproliferativos, como o nome indica, inibem a proliferação celular através da inibição da síntese de purinas, (em particular dos linfócitos T, em resposta à IL-2). Este grupo compreende a Azatioprina, o Micofenolato de Mofetil, o Sirolimus (também conhecido como Rapamicina) e o Everolimus (Taylor, Meiser, & Webber, 2010).

A terapia com Azatioprina foi a mais usada na profilaxia das rejeições agudas e crónicas até ao aparecimento da CsA. Este imunossupressor intervém no metabolismo normal das purinas e conseqüentemente interfere com a síntese de ADN e na proliferação celular (Bennett, 2010) (Montagnat-Tatavin, 2012).

A dose de Azatioprina deverá ser modificada em função da contagem dos glóbulos brancos, sendo indicada a suspensão imediata do medicamento caso esteja abaixo de 4000/mm<sup>3</sup>, devido ao risco de aplasia da medula óssea (Mueller, 2004).

O Micofenolato de Mofetil inibe a proliferação de células T e B em resposta à estimulação alogénica, enquanto que as células T são consideradas o principal alvo da Rapamicina e do Everolimus.

Para ser ativado, o MMF deve ser transformado em Ácido Micofenólico, inibindo desta forma, por ação da *inosina-monofosfato-desidrogenase*, a síntese de purinas “de novo”.

Num estudo realizado (Kobashigawa *et al.*, 1998), que incluiu 650 doentes, verificou-se que a substituição da Azatioprina por MMF reduzia o risco de mortalidade e de rejeição, no primeiro ano pós transplante (nos dois grupos associou-se a ciclosporina e os corticóides) (Bennett, 2010). No entanto, as infeções foram mais frequentes no grupo do MMF (Kobashigawa, *et al.*, 1998).

O Everolimus e o Sirolimus inibem a proliferação celular inibindo o mTOR (Mueller, 2004).

Os corticóides exercem uma dupla ação imunossupressora e anti-inflamatória, inibindo a síntese de citocinas. Este efeito está ligado à diminuição da expressão de genes que codificam as citocinas levando à diminuição da produção da IL-2. Inibem a ação dos macrófagos, impedindo a segregação de citocinas, a fagocitose e a infiltração destas células nos tecidos (Eisen H. J., 2008) (Taylor, Meiser, & Webber, 2010).

São utilizados de forma preventiva ou curativa na rejeição, no entanto, quando são usados em doses elevadas, exercem um efeito citotóxico sobre todos os linfócitos T ativos e inativos, levando ao desenvolvimento de infecções bacterianas (Taylor, Meiser, & Webber, 2010).

De um modo geral, todas estas drogas que anulam a ação do sistema imunológico têm efeitos colaterais específicos do próprio agente e outros efeitos comuns a todos os agentes imunossupressores, nomeadamente o aumento da suscetibilidade às infecções e aos tumores, particularmente linfomas (Eisen H. J., 2008). A gravidade destes efeitos colaterais tem motivado uma procura constante de novos agentes imunossupressores mais específicos e eficazes na prevenção da rejeição de transplante de órgãos.

## Capítulo 3 - Métodos de Diagnóstico da rejeição

O Cateterismo Cardíaco Direito com Biópsia Endomiocárdica continua a ser o método padrão para a deteção da rejeição em recetores de transplante cardíaco ortotópico (Lima, 2002) (Calé, *et al.*, 2012).

Vários estudos demonstram que o aumento da pressão sistólica e diastólica do ventrículo direito e do capilar pulmonar encravado está associado á rejeição cardíaca aguda (Anderson, 2010).

Para aumentar a sensibilidade deste método, é recomendada a sua realização de forma regular no primeiro ano após o transplante. Nos HUC, o doente transplantado é submetido a cerca de 12 Biópsias Endomiocárdicas, durante o primeiro ano após a realização do transplante, sendo removidos pelo menos 2 fragmentos do septo interventricular em cada procedimento.

Este procedimento invasivo embora seguro, não é isento de complicações. As mais frequentes são as complicações do acesso vascular, mas também estão descritas reações alérgicas, perfuração cardíaca que leva ao tamponamento, embolia, arritmias, perturbações da condução, lesão da válvula tricúspide com regurgitação associada e fístulas coronárias (Calé, *et al.*, 2012).

Na tentativa de diminuir a morbilidade da biópsia, alguns métodos não invasivos têm sido propostos, com elevada sensibilidade e especificidade, especialmente em doentes com baixo risco, hemodinamicamente estáveis e assintomáticos.

A avaliação de alterações hormonais e marcadores biológicos como os peptídeos natriuréticos do tipo B (BNP), adrenomedulina (ADM), Troponina T, Proteína C Reativa (PCR), Fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas, têm sido estudados no contexto da rejeição do transplante cardíaco.

Em vários estudos realizados tem-se verificado um aumento destes marcadores durante os episódios de rejeição após transplante (Calé, *et al.*, 2012).

O ecocardiograma tem sido também um dos principais métodos de diagnóstico na avaliação da insuficiência cardíaca (FE <45%) e na rejeição após transplante cardíaco. É um método seguro, prático e de baixo custo que permite avaliar de forma rápida e seriada a função cardíaca.



Alguns estudos apontam o aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo como sendo o primeiro sinal ecocardiográfico relacionado com a rejeição cardíaca (Schroeder, *et al.*, 1969). Outros parâmetros associados à rejeição cardíaca são o aparecimento ou o aumento de derrame pericárdico pré-existente, as alterações na função valvular e as alterações da função sistólica ventricular (Ciliberto, *et al.*, 1995).

A função diastólica, nos doentes transplantados, é caracterizada por um aspeto do tipo restritivo que normalmente melhora durante o primeiro mês de transplante. O agravamento repentino do tipo restritivo é um bom indicador de rejeição aguda (Asante-Korang, *et al.*, 2004).

Num estudo realizado a 54 pacientes transplantados submetidos a Biópsia Endomiocárdica e ecocardiograma com doppler tecidual verificou-se que o melhor preditor isolado para o diagnóstico de rejeição foi a onda “a” lateral (velocidade diastólica tardia na parede lateral) com sensibilidade de 76,3% e especificidade de 73,8% (Resende, *et al.*, 2011).

Noutro estudo realizado a uma população de crianças transplantadas ao coração, em que se compararam 267 ecocardiogramas com doppler tecidual e Biópsia Endomiocárdica, verificou-se que o único dado preditor de rejeição foi a razão entre a velocidade da onda E/E’ dos anéis mitral e tricúspide menor que cinco, com um valor preditivo negativo de 93% e 89% respetivamente (Behera, *et al.*, 2008).

A análise do eletrocardiograma foi durante muito tempo objeto de estudo para a identificação dos doentes em fase aguda de rejeição. Hoje em dia, apesar de ser do conhecimento geral a fraca relação existente entre este exame e os episódios de rejeição, existem alguns sinais indiretos que podem ser levados em consideração. Apesar da baixa especificidade quando avaliadas isoladamente, a diminuição da voltagem do eletrocardiograma superior a 25%, a presença de alternância de potenciais ou de arritmias são as variáveis tidas em consideração (Bourge, *et al.*, 1998).

Num outro estudo realizado, em que se procedeu à realização de 18 autopsias a corações transplantados descobriu-se que a rejeição aguda envolvia severamente quer o sistema de condução quer o miocárdio (Eisen & Kusmirek, 2012).

A gênese das perturbações da condução podem estar relacionadas com a colheita do órgão, (pelas lesões de isquemia/reperfusão impostas para a preservação do órgão) bem como com a técnica cirúrgica em si.

Com a técnica cirúrgica convencional de Shumway é previsível a presença de duas ondas P diferentes nos traçados de ECG. O excesso de tecido auricular modifica a geometria do anel tricúspide provocando uma elevada taxa de insuficiência tricúspide nestes doentes. As arritmias supraventriculares nestes casos são bastante frequentes (Rothman & Eisen, 2006).

No transplante ortotópico pela técnica de anastomose bicava, as arritmias cardíacas também são comuns, particularmente no período pós-operatório imediato (Stecker, *et al.*, 2005).

O bloqueio de ramo direito é uma anomalia que está presente em 80 a 90% dos doentes transplantados ao coração. Mesmo sem estar presente, previamente no dador, esta perturbação da condução não se relaciona com os episódios de rejeição (Rothman & Eisen, 2006).

Alguns autores associam a presença de fibrilação auricular ou flutter auricular aos processos inerentes à rejeição aguda, no entanto, outros associam este tipo de arritmias à doença vascular do enxerto (Stecker, *et al.*, 2005).

Dos vários estudos elaborados nenhuma relação foi estabelecida entre as arritmias ventriculares e a rejeição.

### **3.1- Potenciais Tardios como preditores de rejeição**

Caracterizado pela produção e proliferação de citocinas e/ou pela produção de anticorpos que ativam proteínas do sistema complemento, o processo de rejeição remete a atração das células de defesa ao “neo-coração” promovendo de forma mais ou menos rápida a destruição do órgão transplantado (Eisen H. J., 2008).

Apesar de inúmeras terapias imunossupressoras poderem “inativar” este processo, a lesão celular exercida com o restabelecimento do fluxo sanguíneo (lesões de isquemia/reperfusão), associada às reações imunológicas, induzem alterações metabólicas e iónicas que culminam na sobrecarga intracelular de  $Ca^{2+}$  (Chassot, *et al.*, 2012).

Segundo Girão, a acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{H}^+$  no citoplasma da célula cardíaca, condiciona a degradação da Conexina 43, que é a proteína que assegura a comunicação rápida e eficaz entre a maioria das células contribuindo para o normal funcionamento do órgão (Girão, Catarino, & Pereira, 2009) (Bejarano, *et al.*, 2012).

As Conexinas 43 formam as “*gap junctions*” entre miócitos, e como tal assumem grande importância na manutenção e propagação rápida do sinal elétrico que está na origem da contração cardíaca (Bejarano, *et al.*, 2012).

A alteração/inativação destas conexinas dificulta a propagação normal do sinal (Chassot, *et al.*, 2012).

Considera-se que alterações na comunicação entre células cardíacas, mediada pelas Conexinas 43, possam estar na origem de diversas patologias como a doença coronária, a insuficiência cardíaca e a rejeição do órgão após transplante (Bejarano, *et al.*, 2012).

Uma vez que a rejeição se caracteriza por um conjunto de reações inflamatórias que provocam alterações morfofuncionais, nomeadamente zonas de fibrose miocárdica de condução lenta e fragmentada, alguns autores realizaram estudos de forma a encontrarem uma relação entre estes PT e o quadro de rejeição.

O ECG de alta resolução é uma técnica de aquisição eletrocardiográfica direcionada para detetar anomalias na condução, demasiado subtis e finas para serem detetadas pelo ECG convencional (Cain, *et al.*, 1996) (Narayanaswamy, 2002) (Berbari, 2002) (Santos, *et al.*, 2012).

Tem por isso como finalidades principais melhorar a avaliação da onda P, da atividade do sistema His-Purkinje e detetar PT.

Os PT são micropotenciais anormais, fragmentados e de baixa amplitude. Foram inicialmente descritos como sendo marcadores de substratos de reentrada suscetíveis de desenvolver arritmias ventriculares, substratos estes originados das zonas lesadas após Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM). Deste modo a maioria dos estudos realizados inicialmente incidiram sobre a estratificação de risco de taquiarritmias ventriculares neste grupo de doentes (Cain, *et al.*, 1996) (Narayanaswamy, 2002).

Com a utilização do ECG de alta resolução, a identificação dos PT pode ser feita utilizando um de dois métodos; um é o “*signal averaging*” (domínio do tempo, domínio da frequência, combinação) e o outro o “*spatial averaging*” (Narayanaswamy, 2002).

Muito genericamente, o “*signal averaging*” é aplicável a sinais de ECG repetitivos enquanto o “*spatial-averaging*” incide no registo de PT de batimento a batimento (Berbari, 2002) (Narayanaswamy, 2002).

Hoje em dia, o método mais utilizado é o “*signal-averaging*” no domínio do tempo (Majeed, *et al.*, 2005).

A aquisição do traçado, por este método, consiste na obtenção da média aritmética resultante do somatório de múltiplos complexos, (usualmente 200), colhidos durante cerca de 5 minutos, num ambiente com o mínimo de ruído sonoro possível, obtendo-se um complexo QRS médio (Figura 10) (Narayanaswamy, 2002) (Santos, *et al.*, 2012).

Através de um processo de filtragem é possível aumentar a razão sinal-ruído dos complexos colhidos, sendo possível detetar sinais na ordem do microvolt ( $\mu\text{V}$ ) no final do complexo QRS médio.

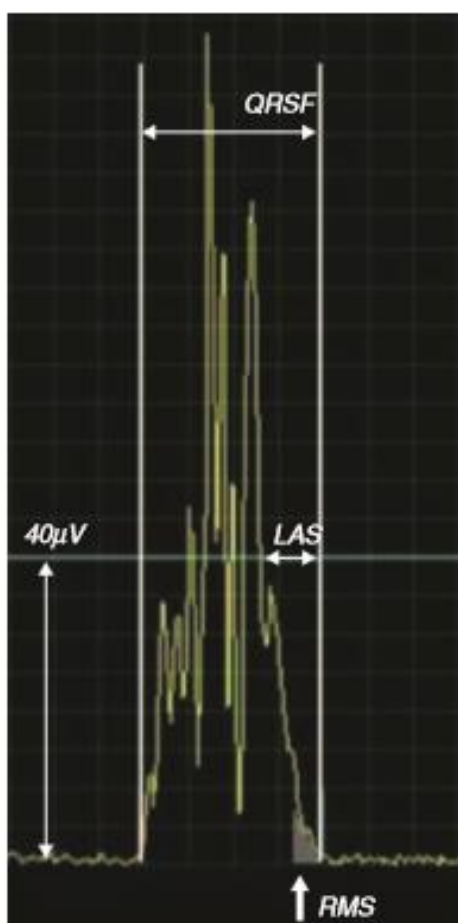
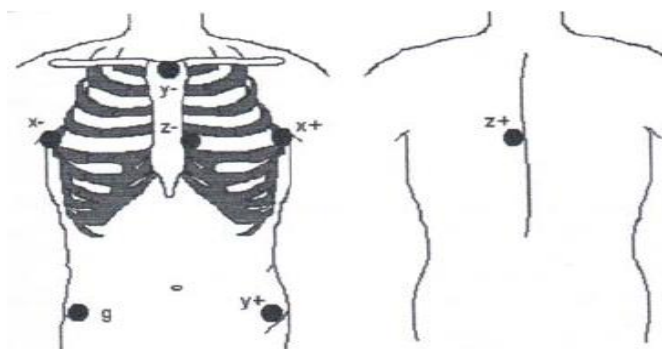


Figura 10 - QRS médio após aplicação do método “*signal averaging*” no domínio do tempo (Santos, *et al.*, 2012).

Regra geral, para a obtenção do traçado são utilizadas as derivações ortogonais (derivações de Frank) constituindo os eixos cartesianos X, Y e Z como se verifica na figura 11. Estas derivações têm a função de amplificar os sinais elétricos dos 200 batimentos.



**Figura 11 - Posicionamento dos eletrodos, (Majeed, et al., 2005)**

No domínio do tempo a análise do sinal faz-se em duas etapas; numa primeira parte onde existe a filtração do sinal (geralmente com um filtro bidirecional de 40 Hz, para o complexo QRS ou com um filtro de mínimos quadrados (20Hz) para a onda P) e numa segunda parte onde existe obtenção e análise do vetor magnitude (isto é, o complexo QRS filtrado ou onda P filtrada) (Narayanaswamy, 2002).

Atualmente, os critérios formulados pela “*American College of Cardiology*” (ACC) são os mais aceites para a identificação dos PT, no entanto, para populações específicas há outros igualmente importantes (Quadro3) (Cain, et al., 1996).

<b>Análise do complexo QRS (40Hz)</b>						
	ACC	Buckingham	Brembilla	Gatzoulis	Nalos	Moraes
QRSf (ms)	≤114	<145	≤160	≤145	≤120	-
RMS40 (μV)	≥20	>17	≥20	≥17,5	≥15	≥14
LAS40 (ms)	≤38	<45	≤30	≤50	≤40	-
<b>Análise da onda P (20Hz)</b>						
	Budeus	Masuda	Ginefra			
DPf (ms)	≤120	<130	<140			
RMS20 (μV)	≥3,5	>2,0	>3,5			

QRSf: duração do complexo QRS filtrado; RMS40: Voltagem do sinal terminal nos últimos 40 ms; LAS40: Duração do sinal terminal inferior a 40 μV; DP: duração da onda P filtrada; RMS20: Voltagem do sinal terminal da onda P, nos últimos 20 ms.

**Quadro 3. Critérios de normalidade do ECG de alta resolução no domínio do tempo para os Potenciais Tardios.**

Para os PT Ventriculares, a formulação dos critérios de normalidade pela ACC baseou-se num conjunto de estudos sobre a estratificação do risco de TV pós EAM.

Segundo a ACC, na presença de um QRS estreito no ECG convencional (<120ms) e com um ruído de sinal < 1 $\mu$ V, existe presença de PT no ECG de alta resolução quando 2 de 3 critérios mencionados no quadro se apresentam alterados (Cain, *et al.*, 1996) (Berbari, 2002).

Para estes autores o critério com maior valor diagnóstico é o QRSf.

É arriscado avaliar um ECG de alta resolução em casos de bloqueios de ramo pelos critérios da ACC, uma vez que a especificidade dos diferentes critérios se torna baixa.

Indivíduos com bloqueio de ramo do feixe de His, de um modo geral, são excluídos dos estudos sobre o ECG de alta resolução no domínio do tempo, pois a alteração da ativação ventricular pode mascarar e/ou simular a presença de PT. Nos indivíduos com bloqueio de ramo, as zonas miocárdicas anormais geradoras de sinais de baixa amplitude podem estar “escondidas” pela ativação retardada das regiões do miocárdio normal. Com a aplicação da filtragem do sinal e posterior análise do vetor magnitude, falso-positivos podem ser obtidos. A existência de bloqueio completo provoca alterações do ECG de alta resolução, nomeadamente, o QRSf aparece alargado com baixa voltagem terminal, com diminuição da RMS40 e com um aumento da LAS40 (Daliento, *et al.*, 1995) (Narayanaswamy, 2002) (Albalkhi, 2003).

A limitação do uso do ECG de alta resolução neste grupo de pacientes relaciona-se, sobretudo, com a não uniformidade de critérios para o reconhecimento dos PT.

Segundo alguns autores, uma vez que a incidência de bloqueio de ramo nos indivíduos com insuficiência cardíaca é relativamente alta (42%) e a incidência de arritmias ventriculares malignas neste grupo também, comparativamente com os indivíduos sem anomalias da condução (14% vs. 4%), existe uma necessidade emergente de definir critérios para a identificação de PT nos pacientes com bloqueio de ramo.

Buckingham e colaboradores adotaram os critérios do quadro 3 para estratificação de risco arritmico nos pacientes com bloqueios de ramo. Atendendo ao número limitado de doentes no estudo, não houve separação de doentes com bloqueio de ramo esquerdo ou direito. O conjunto destes critérios revelou pouca fiabilidade diagnóstica. A sua

sensibilidade e especificidade rondou os 60% (Buckingham, *et al.*, 1988) (Albalkhi, 2003).

Para tentar colmatar estas falhas, Brembilla e a sua equipa estudaram separadamente a influência do bloqueio de ramo esquerdo e direito sobre os critérios de ECG de alta resolução associado à cardiopatia subjacente. Estes autores descobriram que o  $QRS_f \geq 160\text{ms}$  e uma  $RMS_{40} < 20 \mu\text{V}$  para o bloqueio de ramo direito associado às sequelas de enfarte eram suficientemente fiáveis para os diferentes sujeitos com ou sem taquiarritmia ventricular. A sensibilidade e a especificidade destes critérios rondou os 70 e os 65% respetivamente (Brembilla-Perrot, *et al.*, 1996) (Albalkhi, 2003).

Gatzoulis e colaboradores estudaram os critérios do ECG de alta resolução em pacientes com perturbações do tipo bloqueio de ramo direito, bloqueio de ramo esquerdo e alterações inespecíficas da condução. Desse estudo distinguiram-se dois grupos: um grupo com alterações minor, onde se incluíram os pacientes com QRS entre 100 e 120 ms no ECG convencional e um segundo grupo com alterações major, fazendo parte os pacientes com  $QRS \geq 120\text{ms}$  no ECG convencional (Gatzoulis, *et al.*, 1995). Após avaliação dos resultados, chegou-se à conclusão de que os critérios aceites para o primeiro grupo seriam os critérios da ACC, no entanto para o segundo grupo preconizaram-se certas modificações como se pode constatar no Quadro 3.

Verificaram ainda que a combinação de dois critérios melhora a identificação de pacientes de risco que apresentaram taquiarritmia ventricular pós EAM, com uma sensibilidade de 68% e uma especificidade de 73% (Gatzoulis, *et al.*, 1995) (Albalkhi, 2003).

Para conseguir estabelecer critérios mais rígidos para o correto reconhecimento dos PT na presença de bloqueio de ramo Nalos e a sua equipa formularam que nos pacientes com  $QRS_{\text{basal}} \geq 120 \text{ms}$ , utilizando filtros de 25Hz a 250 Hz consideraram a presença de PT quando os três critérios (Quadro 3) fossem anormais (Nalos, *et al.*, 1991) (Moffa, 1993).

Com a utilização destes critérios, relacionando pacientes com e sem atrasos na condução, verificou-se que os pacientes com PT e bloqueios de ramo tiveram uma taxa de arritmias ventriculares de 35%, comparativamente a uma taxa de 7% referente aos pacientes sem bloqueios de ramo (Nalos, *et al.*, 1991).

Para Moraes, uma vez que a duração do QRSf está alterada pela presença do bloqueio de ramo, somente a análise da RMS40 tem valor diagnóstico. Segundo este autor um QRSf  $> 180$  ms, associado a um  $RMS40 \leq 14 \mu V$  não altera a acurácia preditiva total (Moraes, *et al.*, 1994) (Grell, *et al.*, 2006).

A análise dos PT ao nível da onda P também constitui grande importância uma vez que estes potenciais também podem influenciar a atividade auricular.

A maioria dos estudos sobre a avaliação da onda P pelo ECG de alta resolução avalia a relação entre as condições eletrofisiológicas das aurículas e as taquiarritmias auriculares, principalmente com a fibrilação auricular.

Os critérios sobre esta análise ainda não estão bem definidos. Recorrendo a diferentes tipos de filtragem, obtêm-se diferentes resultados. Tal fato é explicado pela ativação final da aurícula direita que se sobrepõe ao início da ativação da aurícula esquerda, “ocultando” assim a eventual presença de PT na aurícula direita.

A maioria dos estudos relacionados para definição dos critérios de normalidade dos PT auriculares incidem, maioritariamente, sobre doentes com fibrilação auricular.

Segundo Ginefra e colaboradores a RMS nos últimos 20 ms da onda P possui um bom valor preditivo para o desenvolvimento da fibrilação auricular e consideram a duração da onda P filtrada  $> 140$ ms como sendo o parâmetro de melhor acurácia preditiva de fibrilação auricular (Ginefra, *et al.*, 2004).

Num outro estudo realizado por Budeus e colaboradores, onde se compararam duas populações de indivíduos com e sem fibrilação auricular, chegou-se à conclusão, com uma especificidade de 80% e uma sensibilidade de 78%, de que uma duração da onda P filtrada  $> 120$ ms e uma  $RMS20 < 3,5 \mu V$  eram os melhores critérios para identificar PT auriculares em indivíduos com fibrilação auricular (Budeus, *et al.*, 2003).

Por sua vez Masuda, num estudo em que tentou perceber qual a associação entre os PT e a recorrência de fibrilação auricular após ablação, definiu que os critérios mais aceitáveis para a presença de PT auriculares seriam a  $DPf \geq 30$ ms e a  $RMS20 \leq 2,0 \mu V$  numa população de doentes submetidos a ablação (Masuda, *et al.*, 2013).

Tendo em conta a população de doentes transplantados ao coração, alguns autores têm-se debruçado sobre o estudo destes doentes recorrendo ao ECG de alta resolução.



Num estudo realizado a 20 indivíduos transplantados submetidos a Biópsia Endomiocárdica, verificou-se uma diminuição dos valores da RMS40 e do QRSf nos indivíduos com rejeição, comparativamente com os indivíduos sem rejeição (Graceffo & O'Rourke, 1996).

Num outro estudo, onde se realizou ECG de alta resolução a 20 doentes transplantados tratados com ciclosporina, verificou-se uma baixa reprodutibilidade ( $r=0.58$ ) entre o resultado de ECG de alta resolução e os episódios de rejeição no pós-operatório imediato. Contudo, no pós-operatório tardio verificou-se uma boa reprodutibilidade ( $r=0.83$ ) e a boa precisão deste exame na deteção da rejeição, onde se constatou em 92% dos registos anormais de ECG de alta resolução uma associação com os episódios de rejeição (Keren, *et al.*, 1984).

Para Morocutti, num estudo em que pretendeu encontrar a relação entre os PT e a rejeição aguda verificou que a sensibilidade e a especificidade para a presença de PT nos casos de rejeição aguda é de 69% e 71% respetivamente (Morocutti, *et al.*, 1995).

Tendo em conta o ECG de alta resolução na análise do espectro de frequências, um outro estudo, verificou um aumento da magnitude do sinal entre os 70-110 Hz de frequência e uma diminuição da magnitude do sinal entre os 10 -30 Hz na rejeição aguda (Haberl, *et al.*, 1987). A mesma conclusão foi retirada noutro estudo onde se adquiriram 61 traçados de ECG de alta resolução (5 com rejeição e 56 sem rejeição) (Valentino, *et al.*, 1992).

O estudo dos PT em populações de doentes transplantados constitui assim, um grande interesse. Apesar de não estarem uniformizados os critérios de normalidade, os critérios formulados no quadro 3 podem revelar-se úteis, especialmente para a identificação de PT ventriculares, na medida em que 80 a 90 % destes doentes apresentam bloqueio de ramo direito (Rothman & Eisen, 2006).

À primeira vista, o estudo dos PT auriculares em doentes transplantados ao coração não manifesta grande interesse. Contudo, como já foi referido anteriormente, a fibrilação auricular nestes indivíduos está muitas vezes relacionada com os fenómenos de rejeição e com a doença vascular do enxerto.

Histologicamente, as alterações devidas a processos inflamatórios do miocárdio auricular, estão associadas às modificações do septo interventricular superior direito inerentes à Biópsia, que podem gradualmente acarretar alterações da válvula tricúspide.

Uma vez instituída uma insuficiência tricúspide, a dilatação da aurícula direita torna-se eminente, levando posteriormente, ao estiramento das fibras auriculares conduzindo à formação de zonas de condução lenta e fragmentada, originando desta forma arritmias (Masuda, *et al.*, 2013).

## **PARTE II – CONTRIBUIÇÃO PESSOAL**

---

## **I – Conceptualização do Estudo**

A Transplantação Cardíaca é considerada a técnica de preferência para a insuficiência cardíaca em fase terminal. Apesar de ser a salvação para inúmeras pessoas, esta técnica é causadora de diversas complicações inerentes a este processo.

A rejeição aguda do órgão, uma das principais causas de morbi-mortalidade nestes pacientes, constitui a complicação mais preocupante.

Hoje em dia, a Biópsia Endomiocárdica do ventrículo direito é o método de eleição para o diagnóstico da rejeição, contudo, vários estudos têm demonstrado que devido ao seu caráter invasivo acarreta diversas complicações, como por exemplo as infeções.

Vários métodos, especialmente não invasivos, têm sido desenvolvidos com o intuito de eliminar estas complicações e ao mesmo tempo fornecer um diagnóstico 100% seguro e fiável.

A nível anatómico, a rejeição caracteriza-se por alterações morfofuncionais no órgão transplantado, originando zonas de condução lenta que fragmentam a atividade elétrica.

O exame mais eficaz para reconhecer a presença destas alterações é o ECG de alta resolução, através da análise dos PT.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi elaborar um score de risco que predisse-se com fiabilidade os episódios de rejeição utilizando dados do ECG de alta resolução.

## II – Material e Métodos

### 1. Amostra

A amostra foi constituída por 28 indivíduos, dos quais 23 eram do sexo masculino e 5 do sexo feminino, transplantados ao coração pelo Centro de Cirurgia Cardiorácica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, apresentando idades compreendidas entre os 19 e os 76 anos e uma idade média de  $54 \pm 12.22$  anos. O tipo de estudo usado foi observacional de coorte fixa e transversal.

Numa primeira etapa da nossa investigação e com base no diagnóstico da Biópsia Endomiocárdica no dia do registo eletrocardiográfico, a nossa amostra foi dividida em dois grupos: um grupo que apresentou como resultado da Biópsia, ausência de rejeição e outro grupo que apresentou presença de rejeição.

Numa segunda etapa a divisão dos grupos manteve-se, no entanto, tendo em conta o diagnóstico de rejeição da totalidade das Biópsias realizadas até ao dia do registo.

A técnica de amostragem baseou-se no reconhecimento de certas características dos indivíduos, tais como a realização de Biópsia Endomiocárdica, para assim assegurar a melhor representatividade possível, sendo deste modo uma amostra por cotas.

Pelo facto dos critérios de seleção limitarem por vezes o carácter probabilístico da amostra, procuraram-se estabelecer critérios de inclusão e exclusão. Deste modo, foram incluídos todos os indivíduos com idades superiores a 18 anos, submetidos a transplante cardíaco, que realizaram Biópsia Endomiocárdica há menos de 24 horas.

Foram excluídos todos os doentes portadores de *pacemaker*, bem como todos os que não cumpriram os critérios de inclusão.

No que diz respeito a questões éticas inerentes a esta investigação, é de salientar que os dados recolhidos tiveram como único objetivo a realização de um trabalho científico, sendo mantido o anonimato relativamente a todos os indivíduos, não existindo quaisquer interesses comerciais.

## 2. Procedimento

Inicialmente, a recolha dos dados eletrocardiográficos foi concretizada utilizando o *software* “NORAV- ECG Monitoring Version 5.0.2”, da Norav Medical Ltd.

Numa segunda fase, através da consulta de processos clínicos obtivemos informação relativa a: dados demográficos; motivo para realização do transplante cardíaco; classe funcional da NYAH relativamente à gravidade da sintomatologia de cada doente; antecedentes e fatores de risco cardiovasculares; cormobilidades; função ventricular esquerda por Ecocardiograma, Ventriculografia e Angiografia de radionuclídeos previamente ao transplante; capacidade respiratória previamente ao transplante; pressões intracavitárias e coronariografia previamente ao transplante.

Ainda obtivemos dados demográficos referentes aos doadores de coração, bem como a causa de morte e histocompatibilidade com o recetor. Dados referentes aos tempos cirúrgicos também foram obtidos.

No dia do registo eletrocardiográfico foram obtidos dados referentes à dosagem e ao tipo de terapêutica imunossupressora de cada doente; análises clínicas; dados do cateterismo incluindo o resultado da Biópsia segundo os critérios da ISHLT de 2004 e dados ecocardiográficos.

### 3. Tratamento Estatístico

Depois de recolhidos e sumariados os dados, procedeu-se ao seu tratamento informático através do programa de tratamento estatístico “*Statistical Package for the Social Sciences*” (SPSS) versão 13.

Numa fase inicial realizou-se uma análise estatística descritiva simples, com cálculo dos valores médios  $\pm$  desvio padrão, frequências relativas e absolutas, medidas de tendência central e de dispersão, para a caracterização de variáveis da amostra, de modo a estabelecer uma caracterização geral da mesma; posteriormente, para a comparação de variáveis contínuas entre os dois grupos, recorreu-se ao teste *t Student* para amostras independentes e ao teste U de Mann-Whitney.

Para a comparação das variáveis categóricas recorreu-se ao teste do  $\chi^2$  complementado pelo teste exato de Fisher.

No que diz respeito ao ensaio de hipóteses aplicaram-se ainda testes como o Rho de Spearman e o Teste de Concordância Kappa de Cohen.

Para identificação dos preditores de rejeição foi aplicada a análise de regressão logística univariada, de forma a possibilitar a elaboração de um Score de risco.

A análise de curvas ROC foi aplicada para avaliar a performance de cada preditor bem como do Score formulado. Para cada ponto de corte analisaram-se os valores de sensibilidade e especificidade.

A interpretação dos testes estatísticos foi realizada com base no nível de significância de  $\alpha=0,05$  com IC de 95%, no entanto, para a elaboração do Score de risco utilizou-se um nível de significância  $\alpha=0.1$  com IC de 95%.

### III. Resultados

#### • 1- Caracterização da amostra

A população em estudo foi constituída por 28 pacientes submetidos a transplante cardíaco, sendo a maioria do género masculino (82.1%). Apresentavam uma idade média de  $54 \pm 12.22$  anos, com idades mínima e máxima de 19 e 76 respetivamente. O IMC médio foi de  $25.14 \pm 3.98 \text{Kg/m}^2$  (Tabela 1).

**Tabela 1: Caracterização demográfica da amostra**

Característica		População (N=28)
Idade (anos)		$54 \pm 12.22$
Género (%)	Masculino	23 (82.1)
	Feminino	5 (17.9)
Altura (cm)		$169.4 \pm 6.26$
Peso (Kg)		$72.39 \pm 14.13$
SC ( $\text{m}^2$ )		$1.83 \pm 0.18$
IMC ( $\text{kg/m}^2$ )		$25.14 \pm 3.98$
G.S (%)	A+	10 (35.7)
	A-	7 (25)
	B+	1 (3.6)
	AB+	1 (3.6)
	O+	9 (32.1)

SC: Superfície Corporal; IMC: Índice de Massa Corporal; G.S: Grupo Sanguíneo.

O motivo mais comum para a realização do transplante cardíaco foi a Miocardiopatia Isquémica (42.9%) seguido da Miocardiopatia Dilatada (35.7%), Miocardiopatia Hipertrófica (10.7%), Miocardiopatia Restritiva (7.1%) e a Displasia Arritmogénica do VD (3.6%).

De acordo com a gravidade dos sintomas, a maioria dos doentes (46.4%) apresentava-se em insuficiência cardíaca avançada (classe III/IV da NYAH) com múltiplos internamentos por descompensação e dependentes de terapêutica inotrópica e vasodilatadora endovenosas (Tabela2).



Previamente ao transplante, a maioria dos pacientes possuía um dispositivo CDI (64.3%); 5 pacientes (17.9%) tinham realizado PCI e 4 (14.3%) interencionados cirurgicamente ao coração.

**Tabela 2: Caracterização clínica da população geral**

Característica	População N (%)
<b>Indicação para Transplante</b>	
M.I	12 (42.9)
M.D	10 (35.7)
M.H	3 (10.7)
M.R	2 (7.1)
DAVD	1 (3.6)
<b>Classe NYHA</b>	
III	7 (25)
III/IV	13 (46.4)
IV	8 (28.6)
<b>Dispositivo</b>	
CDI	18 (64.3)
Pacemaker	3 (10.7)
<b>Intervenções Prévias</b>	
PCI	5 (17.9)
CABG	2 (7.1)
Prótese/Plastia Valvular	1 (3.6)
Cardiomioplastia VD	1 (3.6)

*M.I: Miocardiopatia Isquémica; M.D: Miocardiopatia Dilatada; M.H: Miocardiopatia Hipertrófica; M.R: Miocardiopatia Restritiva; DAVD: Displasia Arritmogénica do Ventrículo direito; CDI: Cardio-desfibrilhador Implantável; PCI: Angioplastia Coronária Percutânea; CABG: Cirurgia de Revascularização Miocárdica; VD: Ventrículo direito.*

Atendendo aos fatores de risco cardiovasculares, um quarto da população (25%) apresentava HTA, 39.3% dislipidémia e 14.3% diabetes *mellitus* tipo 2.

Relativamente aos antecedentes cardiovasculares, 10.7% dos pacientes já tinham sofrido AVC. Mais de metade da população (53.6%) possuía doença coronária, dos quais 25% já tinham sofrido EAM prévio.

**Tabela 3: Caracterização clínica baseada nos Fatores de risco, antecedentes e comorbilidades**

<b>FR Cardiovascular, Antecedentes e comorbilidades</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b><i>FR Cardiovascular</i></b>		
HTA	7	(25.0)
Dislipidémia	11	(39.3)
Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2	4	(14.3)
<b><i>Antecedentes pessoais e comorbilidades</i></b>		
Doença coronária	15	(53.6)
AVC	3	(10.7)
HTP	11	(39.3)
Hipotireoidismo	3	(10.7)
Amiloidose Atípica	1	(3.6)
Hepatite A	1	(3.6)
Hepatite B de transmissão perinatal	1	(3.6)
Hiperuricemia	1	(3.6)
Cálculo biliar	1	(3.6)
IRC	1	(3.6)
Apendicectomia	1	(3.6)
Bypass aorto-bifemoral	1	(3.6)
Hernioplastia inguinal	1	(3.6)
<b><i>Antecedentes familiares</i></b>		
História familiar de MH	2	(7.1)
História familiar de MSC	3	(10.7)

HTA: Hipertensão Arterial; AVC: Acidente Vascular Cerebral; HTP: Hipertensão Pulmonar; IRC: Insuficiência Renal Crónica; MH: Miocardiopatia Hipertrófica; MSC: Morte Súbita Cardíaca.

### • 1.1- Avaliação clínica prévia ao transplante

A avaliação da fração de ejeção avaliada por ecocardiograma, ventriculografia e angiografia de radionuclídeos, previsivelmente, revelou-se baixa. Como se pode constatar na Tabela 4, não existem diferenças de relevo entre os três métodos.

**Tabela 4: Avaliação da Fração de Ejeção**

Métodos de Diagnóstico	N (%)	Fração de Ejeção (%)
Ecocardiograma	18 (64.3)	23.11 ± 8.14
Ventriculografia	21 (75)	25.00 ± 14.22
Angiografia de radionuclídeos	22 (78.6)	19.73 ± 7.99

Por cateterismo, a avaliação da pressão arterial pulmonar revelou que 39.3% da população apresentava HTP (Tabela 3). A Pressão sistólica da Artéria Pulmonar (PSAP) foi de 42.92±24.95 mmHg, sendo o Gradiente Transpulmonar (GTP) de 10.0± 4.12 mmHg e as RVP 252.4±130.82 dynes\*s\*cm<sup>-5</sup>.

A capacidade aeróbia avaliada em 19 pacientes, por prova de esforço cardiorrespiratória demonstrou-se deprimida. O consumo máximo de oxigénio (VO<sub>2</sub>máx) foi de 12.32±2.16 ml/Kg/min.

Quanto ao ECG previamente ao transplante verificou-se que 14 pacientes (50%) estavam em ritmo sinusal, 11 (39.3%) em ritmo de Pacing e 3 (10.7%) em Fibrilhação Auricular.

### • 2- Caracterização clínica-Transplante

No que diz respeito aos órgãos doados, a maioria (64.3%) pertenciam a indivíduos do género masculino que apresentavam uma média de idades de 36.5 ± 12.78 anos. O Grupo sanguíneo mais prevalente foi o A+ (35.7%) e a causa de morte foi em 50% dos casos o traumatismo craneoencefálico (Tabela 5).

**Tabela 5: Caracterização demográfica dos doadores**

Característica		N=28
Idade (anos)		36.5 ± 12.78
Género (%)	Masculino	18 (64.3)
	Feminino	10 (35.7)
Altura (cm)		169.4 ± 8.18
Peso (Kg)		75.20 ± 16.27
SC (m <sup>2</sup> )		1.86 ± 0.22
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )		26.00 ± 4.18
GS (%)	A+	10 (35.7)
	A-	3 (10.7)
	O+	12 (42.9)
	O-	3 (10.7)
Causa de Morte (%)	AVC Isquémico	3 (10.7)
	Reação Anafilática	1 (3.6)
	Traumatismo Craneoencefálico	14 (50.0)
	AVC hemorrágico	10 (35.7)

GS: Grupo Sanguíneo; AVC: Acidente Vascular Cerebral; %: por cento; Kg: quilogramas; m<sup>2</sup>: metros quadrados; Kg/m<sup>2</sup>: quilogramas por metros quadrados.

Relativamente aos testes de histocompatibilidade entre dador e recetor, estudou-se o “*cross-match*”, o painel imunológico (PRA) e a compatibilidade sanguínea atendendo ao sistema ABO.

O *cross-match* foi negativo em todos os casos incluídos na amostra.

A avaliação da sensibilização do recetor ao enxerto pelo PRA variou em todos os casos entre 0% e 8%, sendo que a grande maioria (57.1%) apresentou o valor de 1%.

Atendendo à análise do sistema ABO, constatamos que a distribuição dos órgãos transplantados, na maioria dos casos (82.1%), teve em conta a compatibilidade sanguínea. No entanto essa compatibilidade não esteve presente em 5 casos (17.9%).

No que se refere ao ato cirúrgico, mais concretamente, aos tempos cirúrgicos, o tempo de circulação extracorporeal (CEC) foi em média  $93.79 \pm 21.12$  minutos com um tempo total de isquemia miocárdica de  $85.68 \pm 40.73$  minutos, 17.9% dos indivíduos apresentaram um tempo total de isquemia miocárdica superior a 120 minutos (Tabela 6).

A interrupção da CEC, na maioria dos casos (89.3%), realizou-se sem dificuldades mas com perfusão contínua de dobutamina, com uma dose de  $7.11 \pm 4.20$   $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ .

**Tabela 6: Distribuição da população relativamente aos tempos cirúrgicos e interrupção da CEC**

Característica		População	Mínimo	Máximo
TI á chegada do órgão ao BO (min)		54.08±38.79	11.00	144.00
TI (min)		85.68±40.73	34.00	172.00
Tempo de CEC (min)		93.79±21.12	69.00	172.00
		<b>N (%)</b>	/	
Interrupção da CEC	Sem Dificuldades	2 (7.1)		
	Sem Dificuldades +Dobutamina	25 (89.3)		
	Dobutamina + Assistência Ventricular	1 (3.6)		

TI: Tempo de Isquemia; BO: Bloco Operatório; CEC: Circulação Extracorporeal; min: minutos.

### • 2.1- Avaliação clínica

O seguimento clínico dos doentes neste estudo ( $32.68 \pm 32.89$  meses) referiu-se ao tempo compreendido entre a realização do transplante e a aquisição do traçado de ECG de alta resolução após Biópsia Endomiocárdica, tendo variado entre os 12 dias (<1 mês) e os 3124 dias (102 meses). Para metade da população (50%) o tempo de seguimento foi inferior a 20 meses.

Relativamente à terapêutica imunossupressora 22 indivíduos (78.6%) estavam medicados, até ao dia do registo, com Ciclosporina com uma dose diária de  $167.05 \pm 57.42$  mg; 24 indivíduos (85.7%) com Micofenolato de Mofetil com uma dose diária de  $1812.50 \pm 484.82$  mg; 26 indivíduos (92.9%) com Corticóides com uma dose diária de  $10.67 \pm 14.99$  mg; 7 indivíduos (25%) com Tacrolimus com uma dose diária de  $3.36 \pm 1.38$  mg e 4 indivíduos (14.3%) com Sirolimus ou Everolimus com uma dose diária de  $0.81 \pm 0.13$  mg.

A Ciclosporinémia foi de  $218.29 \pm 210.72$  mg/ml. Por sua vez a Tacrolinémia foi de  $18.86 \pm 17.99$  mg/ml e a Everolinémia de  $10.2 \pm 0.71$  mg/ml.

A análise sanguínea foi realizada em todos os doentes antes da realização da Biópsia Endomiocárdica. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 7 e 7.1.

**Tabela 7: Análise sanguínea no dia do registo (Bioquímica sérica)**

Característica	N	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo
<b>Bioquímica</b>				
Azoto Ureico (ureia) (mg/dl)	27	$36.18 \pm 18.31$	14.40	99.00
Creatinina (mg/dl)	27	$1.87 \pm 2.07$	0.7	11.39
Glicose (mg/dl)	26	$108.04 \pm 34.84$	54.00	201.00
Proteínas Totais (g/dl)	17	$10.12 \pm 13.63$	6.00	63.00
Albumina (g/dl)	17	$4.36 \pm 0.41$	3.40	5.10
Colesterol Total (mg/dl)	15	$187.93 \pm 47.24$	130.00	279.00
HDL (U/l)	15	$50.73 \pm 9.25$	35.00	69.00
Triglicédeos (mg/dl)	15	$172.40 \pm 131.82$	72.00	615.00
Ácido Úrico (mg/dl)	13	$6.89 \pm 1.93$	3.8	10.2
PCR (mg/dl)	26	$0.43 \pm 0.56$	0.01	2.18
Bilirrubina Total (mg/dl)	25	$0.69 \pm 0.233$	0.3	1.2
TGO (U/l)	27	$26.48 \pm 12.53$	10.00	61.00
TGP (U/l)	27	$31.48 \pm 27.90$	8.00	122.00
Gama-GT (U/l)	27	$86.48 \pm 84.54$	12.00	336.00
Fração Alcalina (U/l)	26	$79.88 \pm 40.12$	3.90	196.00
CK (U/l)	27	$116.56 \pm 123.11$	34.00	522.00
LDH (U/l)	27	$230.30 \pm 98.34$	92.00	474.00
<b>Ionograma</b>				
Na <sup>2+</sup> (mmol/l)	27	$139.30 \pm 2.49$	133.00	144.00
K <sup>+</sup> (mmol/l)	27	$4.48 \pm 0.54$	3.50	5.70
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	27	$9.63 \pm 0.38$	9.00	10.40
Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	27	$98.19 \pm 19.64$	1.03	108.00
Osmolalidade (mOsm/kg)	27	$289.78 \pm 21.08$	201.00	303.00

HDL: Desidrogenase Láctica; PCR: Proteína C Reativa; TGO: Transaminase Glutâmico Oxaloacética; TGP: Transaminase Glutâmico Pirúvica; Gama-GT: Gama Glutamiltransferase; CK: creatina kinase; LDH: Lactato Desidrogenase; Na<sup>2+</sup>: ião sódio; K<sup>+</sup>: ião potássio; Ca<sup>2+</sup>: ião cálcio; Cl<sup>-</sup>: ião cloro; mg/dl: miligramas por decilitro; g/dl: gramas por decilitro; U/l: unidades por litro; mmol/l: milimoles por litro; mOsm/kg: miliosmoles por kilograma.

**Tabela 7.1: Análise sanguínea no dia do registo (Hemograma)**

Característica	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<b>Hemograma</b>				
Eritrócitos ( $\times 10^{12}/l$ )	27	4.12±0.53	3.19	5.41
Hb (g/dl)	27	12.61±1.48	10.10	15.50
HCT (%)	27	38.44±4.33	30.00	45.80
VCM (fl)	27	93.65±4.33	83.30	103.20
Leucócitos ( $\times 10^9/l$ )	27	8.02±2.82	2.40	14.00
Neutrófilos ( $\times 10^9/l$ )	17	67.98±9.74	48.40	84.50
Eosinófilos ( $\times 10^9/l$ )	17	1.44±0.92	0.3	3.80
Basófilos ( $\times 10^9/l$ )	16	1.07±2.13	0.2	9.00
Linfócitos ( $\times 10^9/l$ )	17	22.29±9.14	7.50	41.50
Monócitos ( $\times 10^9/l$ )	17	9.26±5.73	2.9	28.00
Plaquetas ( $\times 10^9/l$ )	27	222.22±64.22	131.00	383.00
VSG1H (mm/h)	16	11.50±6.94	2.00	26.00

Hb: Hemoglobina; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; VSG1H: Velocidade de Sedimentação Eritrocitária na 1ª Hora;  $\times 10^{12}/l$ : vezes  $10^{12}$  por litro; g/dl: gramas por decilitro; %: por cento; fl: femtolitro;  $\times 10^9/l$ : vezes  $10^9$  por litro; mm/h: milímetros por hora.

## • 2.2-Biópsia

A realização da Biópsia Endomiocárdica consistiu na remoção de pelo menos dois fragmentos em todos os doentes estudados, sendo posteriormente classificada, a presença ou ausência de rejeição utilizando a classificação da ISHLT 2004 para a rejeição celular e humoral.

Em 13 pacientes (46.4%) com a realização da Biópsia procedeu-se à medição das pressões intracavitárias direitas.

Em 15 pacientes (53.6%) realizou-se também cateterismo esquerdo com medição das pressões concernentes à circulação sistémica, estudo da circulação coronária por coronariografia, da função ventricular esquerda por ventriculografia e cálculo das resistências vasculares periféricas e pulmonares (Tabela 8).

A coronariografia revelou em 2 pacientes (7.1%) a presença de ateromatose difusa e estenose coronária significativa (> 50%) em pelo menos um vaso sendo que, num paciente (3.6%), a

ventriculografia revelou um aumento das dimensões do ventrículo esquerdo com hipocinesia da parede inferior e depressão da função. Nos restantes indivíduos que realizaram cateterismo esquerdo, o ventrículo esquerdo apresentou-se normal com boa função sistólica global e uniforme contratilidade. A avaliação do pericárdio revelou um ligeiro derrame circunferencial num indivíduo (3.6%).

**Tabela 8: Caracterização hemodinâmica**

Caracterização Hemodinâmica		População (Média ± DP)		População Geral
<i>Pressões (mmHg)</i>		<i>N=15</i>	<i>N=13</i>	<i>N=28</i>
VD	Sistólica	32.33±6.92	35.50±6.82	33.74±6.93
	Telediastólica	7.07±2.49	8.50±3.23	7.70±2.88
AD	Média	6.27±1.67	7.08±3.96	6.63±2.88
PNI	Sistólica	125.33±13.95	-	
	Diastólica	79.73±7.37	-	
	Média	89.53±8.85	-	
AP	Sistólica	-	30.58±3.12	
	Diastólica	-	14.16±3.76	
	Média	-	21.00±4.02	
VE	Sistólica	-	142.83±21.34	
	Telediastólica	-	18.67±2.50	
PCW	Média	-	12.75±3.36	
AO	Sistólica	-	139.92±21.88	
	Diastólica	-	78.00±13.96	
	Média	-	99.33±23.01	
<b>Função cardíaca</b>				
Índice Cardíaco (l/min/m <sup>2</sup> )		-	3.05±0.83	
Débito Cardíaco (l/min)		-	5.51±1.53	
RVP (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )		-	131.11±83.85	
RPT (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )		-	323.42±108.08	
RVS (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )		-	1530.57±500.50	
RST (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )		-	1538.17±490.67	
Fração de ejeção (%)		-	70.83±13.58	

VD: Ventrículo Direito; AD: Aurícula Direita; PNI: Pressão Arterial não invasiva; AP: Artéria Pulmonar; VE: Ventrículo Esquerdo; PCW: Capilar Pulmonar Encravado; AO: Aorta; RVP: Resistências Vasculares Pulmonares; RPT: Resistências Pulmonares Totais; RVS: Resistências Vasculares Sistêmicas; RST: Resistências Sistêmicas Totais; l/min/m<sup>2</sup>: litros por minuto por metro quadrado; dynes\*s\*cm<sup>-5</sup>: dynes vezes segundo vezes centímetro elevado a -5; %: por cento.



O resultado da Biópsia, após análise da anatomia patológica, revelou que dos 28 doentes estudados, a grande maioria (82.1%) apresentou ausência de rejeição nos fragmentos recolhidos, no entanto, 5 pacientes (17.9%) demonstraram possuir um quadro de rejeição (Tabela 9).

**Tabela 9: Resultado da Biópsia Endomiocárdica no dia do registo**

		População N (%)
<b>Sem Rejeição</b>		23 (82.1)
<b>Rejeição celular</b>	1R	4 (14.3)
	2R	1 (3.6)

1R: Rejeição celular leve; 2R: Rejeição celular moderada.

### 2.3 -Avaliação Ecocardiográfica

Após a Biópsia Endomiocárdica, também se realizou ecocardiograma à população em estudo (Tabela 10).

**Tabela10: Avaliação Ecocardiográfica após Biópsia**

Parâmetros	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<b>ECO</b>				
DDVD (mm)	21	26.83±6.55	14.00	41.00
DDVE (mm)	25	48.16±5.23	39.00	63.00
DSVE (mm)	23	29.00±8.45	4.00	53.00
DDPPVE (mm)	22	8.82±2.20	6.00	16.00
DDSIV (mm)	22	10.14±2.17	7.00	16.00
F.enc (%)	20	40.65±8.53	26.00	70.00
F.ej. (%)	24	67.58±8.98	45.00	79.00

DP: Desvio-Padrão; DDVD: Diâmetro Diastólico do Ventrículo Direito; DDVE: Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo; DSVE: Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo; DDPPVE: Diâmetro Diastólico da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo; DDSIV: Diâmetro Diastólico do Septo Interventricular; F.enc: Fração de Encurtamento; F.ej: Fração de Ejeção; mm: milímetros; %: por cento.

No que diz respeito à função cardíaca, verificamos que se encontrava normal, apresentando na população geral uma fração de encurtamento de 40.65±8.53 % e uma fração de ejeção de 67.58±8.98 % (com um mínimo de 45% e um máximo de 79%).

A avaliação da dinâmica das válvulas cardíacas revelou que a maioria dos doentes apresentava, de uma forma geral, as válvulas cardíacas em boas condições (Tabela 10.1). A Pressão Sistólica da Artéria Pulmonar revelou-se normal ( $24.43 \pm 6.08$  mmHg) em todos os casos analisados (N=7).

**Tabela 10.1: Avaliação valvular por ecocardiograma após Biópsia**

Avaliação Valvular		N (%)
<b>Válvula Mitral</b>		
Normal		14 (50.0)
Insuficiência	Discreta	3 (10.7)
	Ligeira	4 (14.3)
	Ligeira a Moderada	2 (7.1)
	Moderada a severa	2 (7.1)
<b>Total</b>		<b>25 (89.3)</b>
<b>Válvula Tricúspide</b>		
Normal		13 (46.4)
Insuficiência	Discreta	7 (25.0)
	Ligeira	4 (14.3)
<b>Total</b>		<b>24 (85.7)</b>
<b>Válvula Aórtica</b>		
Normal		18 (64.3)
Insuficiência	Discreta	6 (21.4)
	Ligeira	1 (3.6)
<b>Total</b>		<b>25 (89.3)</b>
<b>Válvula Pulmonar</b>		
Normal		11 (39.3)
<b>Total</b>		<b>11 (39.3)</b>

#### • 2.4-Avaliação Eletrocardiográfica

O ECG foi realizado em todos os doentes antes e após a realização da Biópsia Endomiocárdica.

Quanto à medição dos diversos parâmetros do traçado após a Biópsia, os resultados estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11: Avaliação dos parâmetros eletrocardiográficos**

Parâmetros	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<b>ECG</b>				
FC (bpm)	28	80.96±11.36	61.00	101.00
Eixo elétrico (graus)	28	8.89±53.50	-77.00	113.00
Onda P (ms)	28	103.14±15.37	76.00	127.00
PR em DII (ms)	28	164.50±23.63	122.00	208.00
Complexo QRS (ms)	28	110.93±24.88	72.00	164.00
QTc (ms)	28	435.82±26.13	399.00	507.00
TpTe (ms)	28	73.14±15.43	50.00	104.00
Dispersão QT (ms)	28	27.61±18.46	10.00	86.00

*FC: Frequência Cardíaca; PR: intervalo PR; QTc: Intervalo QT corrigido à FC; TpTe: Intervalo Tpeak-Tend; bpm: batimentos por minuto; ms: milissegundos.*

Em relação ao diagnóstico deste exame, verificou-se que todos os doentes se encontravam em ritmo sinusal com uma frequência cardíaca de 80.96±11.36 batimentos por minuto. O eixo elétrico foi normal em 17 pacientes (60.7%), no entanto os ECG pertencentes a 10 indivíduos (35.7 %) exibiram desvio esquerdo do eixo e num indivíduo (3.6%) desvio direito do eixo. Os ECG de 25 doentes (89.3%) revelaram a presença de Bloqueio de ramo direito, (46.4% completo e 42.9% incompleto). Verificou-se que em 10 pacientes (35.7%) existia também, a presença de Hemibloqueio Anterior Esquerdo e em 2 (7.1%) a presença de Hemibloqueio Posterior Esquerdo. Somente num doente (3.6%) foi registada a presença de Bloqueio completo de ramo esquerdo.

A presença de fibrose miocárdica foi também evidenciada nos ECG de 8 pacientes (28.8%). Em 4 destes pacientes (14.4%) o ECG era sugestivo para a presença de fibrose anterior enquanto nos outros 4 (14.4%) para a presença de fibrose inferior.

Ainda se verificou a presença de alterações da repolarização (3.6%), bem como a presença de bloqueio aurículo ventricular de 1º grau (3.6%) em dois traçados de ECG respetivamente.

O estudo dos PT e da Variabilidade da Frequência Cardíaca recorrendo ao ECG de alta resolução foi executado também, após a realização da Biópsia Endomiocárdica. A distribuição das várias variáveis estudadas está descrita nas Tabelas 12, 12.1 e 12.2.

**Tabela 12: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (Potenciais Tardios)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	Mínimo	Máximo
ECGAR	Média ± DP		
Onda Pf (ms)	126.75±10.96	109.00	149.00
RMS20 (µV)	6.69±4.13	2.00	15.10
Nº Entalhes onda Pf	13.54±2.03	9.00	19.00
QRSf (ms)	122.54±21.81	90.00	153.00
RMS40 (µV)	20.43±14.10	4.00	52.00
LAS40 (ms)	47.39±21.85	12.00	85.00
Nº de entalhes do QRSf	12.96±3.02	7.00	18.00
Ruido (µV)	0.63±0.28	0.25	1.2

*ECGAR: ECG de Alta Resolução; Pf: Onda P filtrada; RMS20: Voltagem nos últimos 20 ms da onda Pf; QRSf: complexo QRS filtrado; RMS40: Voltagem nos últimos 40 ms do complexo QRSf; LAS40: Duração do sinal terminal do QRSf inferior a 40 µV; ms: milissegundos; µV: microvoltes.*

**Tabela 12.1: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (VFC -RR)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	Mínimo	Máximo
	Média ± DP		
RRmax (ms)	780.92±116.11	610.00	966.00
RRmin (ms)	729.71±103.90	566.00	928.00
RRmédio (ms)	755.89±110.10	591.00	946.00
FCmédia (bpm)	80.43±11.67	63.00	101.00
SDNN RR (ms)	11.05±14.78	1.90	82.00
rMSSD RR (ms)	8.75±4.83	2.26	21.86
HRVtriang	3.39±1.57	1.08	6.75
NN50 RR	0.29±1.18	0	6
pNN50 RR	0.14±0.59	0	3
VLF RR (ms <sup>2</sup> )	177.22±142.98	5.40	528.32
LF RR (ms <sup>2</sup> )	89.51±76.62	7.64	314.98
HF RR (ms <sup>2</sup> )	212.38±139.29	32.45	517.99
LFHF RR (ms <sup>2</sup> )	0.64±0.60	0.02	2.17
TP RR (ms <sup>2</sup> )	513.71±135.31	198.96	727.77

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; RR: Intervalo RR; max: máximo; min: mínimo; FC: frequência cardíaca; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; HRVtriang: número total de intervalos RR dividido pela altura dos histogramas NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; ms: milissegundos; bpm: batimentos por minuto; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.

**Tabela 12.2: Avaliação dos parâmetros de ECG de alta resolução (VFC - QT)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	Mínimo	Máximo
VFC	Média ± DP		
QT max (ms)	473.39±162.53	354.00	1255.00
QT min (ms)	348.50±32.73	286.00	404.00
QT médio (ms)	384.50±37.25	312.00	459.00
SDNN QT (ms)	17.28±13.15	4.47	70.09
rMSSD QT (ms)	22.53±15.26	5.67	72.66
QTVtriang	4.83±2.50	1.90	13.33
NN50 QT	6.54±9.64	0	34.00
pNN50 QT	3.27±4.85	0	17.00
QTVI RR	1.51±0.47	0.60	2.57
QTVI FC	-1.44±0.19	-1.76	-0.89
QTVN%	0.31±0.10	0.18	0.55
VLF QT (ms <sup>2</sup> )	58.90±37.92	23.11	211.91
LF QT (ms <sup>2</sup> )	126.50±32.95	85.69	224.79
HF QT (ms <sup>2</sup> )	256.47±74.35	158.60	453.82
LFHF QT (ms <sup>2</sup> )	0.54±0.22	0.20	1.21
TP QT (ms <sup>2</sup> )	446.93±77.67	300.66	644.41

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; QT: Intervalo QT; max: máximo; min: mínimo; FC: frequência cardíaca; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; QTVI FC: Índice de variabilidade do QT corrigido à FC; QTVN%: Índice de variabilidade do QT corrigido à totalidade dos intervalos RR; ms: milissegundos; bpm: batimentos por minuto; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.

### • 3-Análise comparada-Rejeição aguda

De forma a verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos com e sem rejeição, baseada na Biópsia do dia do registo (Rejeição aguda), compararam-se várias variáveis (Tabela 13).

**Tabela 13: Comparação das variáveis clínicas em função do diagnóstico de Rejeição aguda**

Parâmetro (N=28)		População sem rejeição	População com rejeição	$\chi^2$	<i>p</i>
Género	Masculino	19 (67.9%)	4 (14.3%)	0.02	1
	Feminino	4 (14.3%)	1 (3.6%)		
GS	A+	8 (28.6%)	2 (7.1%)	5.41	0.23
	A-	4 (14.3%)	3 (10.7%)		
	B+	1 (3.6%)	0		
	AB+	1 (3.6%)	0		
	O+	9 (32.1%)	0		
Indicação para Transplante	MH	2 (7.1%)	1 (3.6%)	1.98	0.73
	MD	9 (32.1%)	1 (3.6%)		
	MI	9 (32.1%)	3 (10.7%)		
	MR	2 (7.1%)	0		
	DAVD	1 (3.6%)	0		
DM	Não	19 (67.9%)	5 (17.9%)	1.01	1
	Sim	4 (14.3%)	0		
Dislipidemia	Não	13 (46.4%)	4 (14.3%)	0.95	0.62
	Sim	10 (35.7%)	1 (3.6%)		
HTA	Não	16 (57.1%)	5 (17.9%)	2.03	0.29
	Sim	7 (25%)	0		
AVC/AIT	Não	20 (71.4%)	5 (17.9%)	0.73	1
	Sim	3 (10.7%)	0		
		População sem rejeição	População com rejeição		
HTP (N=23)	Não	10 (43.5%)	2 (8.7%)	0.01	1
	Sim	9 (39.1%)	2 (8.7%)		

GS: Grupo Sanguíneo; MH: Miocardiopatia Hipertrófica; MD: Miocardiopatia Dilatada; MI: Miocardiopatia Isquémica; MR: Miocardiopatia Restritiva; DAVD: Displasia Arritmogénica do Ventrículo Direito; DM: Diabetes Mellitus; HTA: Hipertensão Arterial; AVC/AIT: Acidentes Vasculares Cerebrais; HTP: Hipertensão Pulmonar.

Para as variáveis demográficas e fatores de risco cardiovasculares, utilizando o teste de Fisher, (dado que o resultado do teste de Qui-Quadrado só deveria ser tomado em conta se o valor esperado nas células da tabela fossem superiores a 5) comprovamos que não existiam diferenças significativas entre os grupos com e sem Rejeição aguda. No entanto, foi possível observar que todos os indivíduos com Rejeição aguda tinham o grupo sanguíneo A e estavam livres de comorbidades como a diabetes, HTA e AVC/AIT.

Outra análise realizada remeteu para a avaliação das diferenças entre os grupos, em termos de medicação imunossupressora (Tabela 14).

Apesar da ausência de diferenças significativas, não pudemos deixar de verificar que todos os indivíduos com Rejeição aguda (17.9%) tomaram Ciclosporina até ao dia do registo tal como 4 dos 5 indivíduos que tomavam Corticóides.

**Tabela 14: Comparação das populações em função da medicação imunossupressora**

Medicação		População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	$\chi^2$	<i>p</i>
CyA	Não	6 (21.4%)	0	1.66	0.55
	Sim	17 (60.7%)	5 (17.9%)		
MMF	Não	3 (10.7%)	1 (3.6%)	0.16	1
	Sim	20 (71.4%)	4 (14.3%)		
Corticóides	Não	1 (3.6%)	1 (3.6%)	1.57	0.33
	Sim	22 (78.6%)	4 (14.3%)		
Tacrolimus	Não	17 (60.7%)	4 (14.3%)	0.08	1
	Sim	6 (21.4%)	1 (3.6%)		
S/E'limus	Não	20 (71.4%)	4 (14.3%)	0.16	1
	Sim	3 (10.7%)	1 (3.6%)		

CyA: Ciclosporina; MMF: Micofenolato de Mofetil; S/E'limus: Sirolimus/Evarolimus; %: por cento.

Tendo em conta as variáveis do cateterismo passíveis de serem comparadas, (nomeadamente as pressões intracavitárias direitas), tentamos saber se existiam diferenças significativas entre os grupos.

Pela análise da Tabela 15, apesar de ser notório um ligeiro aumento de pressões no ventrículo direito e uma diminuição das pressões da aurícula direita para o grupo com Rejeição aguda, não existem diferenças significativas entre os dois grupos.



**Tabela 15: Comparação das populações em função das pressões direitas**

Pressões (mmHg)	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	<i>p</i>
<b>VD</b>				
Sistólica	33.74±6.93	33.68±6.64	34.00±9.00	0.73
Telediastólica	7.70±2.88	7.59±2.86	8.20±3.27	0.83
<b>AD</b>				
Média	6.63±2.88	6.77±3.09	6.00±1.87	0.53

VD: Ventrículo Direito; AD: Aurícula Direita; mmHg: milímetros de mercúrio.

Para avaliar a existência de diferenças significativas entre os grupos, no que diz respeito aos parâmetros das análises sanguíneas, aplicou-se o teste de *t student* para amostras independentes (Tabelas 16 e 16.1).

A análise bioquímica das amostras sanguíneas demonstrou que o único parâmetro a diferir significativamente entre os grupos é a Albumina ( $p=0.03$ ), que apesar de apresentar valores normais nos dois grupos, evidencia valores mais baixos no grupo com Rejeição aguda. Esta análise é complementada pelos valores das Proteínas Totais que, apesar de não possuírem significância estatística, também se apresentaram diminuídos neste grupo.

Sem apresentarem diferenças estatisticamente significativas, mas estando mais elevados no grupo com Rejeição aguda, estão parâmetros como o Azoto Ureico, a Glicose, a Proteína C Reativa, a TGP e a Gama-GT. Os restantes parâmetros bioquímicos apresentam-se diminuídos no grupo de doentes com Rejeição aguda.

**Tabela 16: Comparação das populações tendo em conta as análises clínicas (Bioquímica sérica)**

Parâmetros	População Geral		População sem rejeição		População com rejeição		p
	Bioquímica	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	
Azoto Ureico (mg/dl)	27	36.18±18.31	22	35.71±18.21	5	38.24±20.77	0.90
Creatinina (mg/dl)	27	1.87±2.07	22	1.96±2.28	5	1.46±0.55	0.85
Glicose (mg/dl)	26	108.04±34.84	21	105.10±29.15	5	120.40±55.67	0.95
Proteínas Totais (g/dl)	17	10.12±13.63	13	11.22±15.56	4	6.58±0.40	0.12
Albumina (g/dl)	17	4.36±0.41	13	4.46±0.39	4	4.03±0.35	0.03
Colesterol Total (mg/dl)	15	187.93±47.24	12	188.67±50.71	3	185.00±38.22	0.89
HDL (U/l)	15	50.73±9.25	12	51.42±9.79	3	48.00±7.55	0.47
Triglicerídeos (mg/dl)	15	172.40±131.82	12	181.25±146.50	3	137.00±35.34	0.86
Ácido Úrico (mg/dl)	13	6.89±1.93	10	7.01±2.20	3	6.50±0.44	0.40
PCR (mg/dl)	26	0.43±0.56	21	0.39±0.48	5	0.61±0.89	0.65
Bilirrubina Total (mg/dl)	25	0.69±0.23	20	0.70±0.22	5	0.68±0.29	0.51
TGO (U/l)	27	26.48±12.53	22	26.50±12.61	5	26.40±13.61	0.80
TGP (U/l)	27	31.48±27.90	22	28.77±23.46	5	43.40±44.20	0.45
Gama-GT (U/l)	27	86.48±84.54	22	79.41±83.91	5	117.60±89.44	0.32
Fosfatase Alcalina (U/l)	26	79.88±40.12	22	76.86±40.16	4	96.50±41.07	0.24
CK (U/l)	27	116.56±123.11	22	128.36±132.96	5	64.60±39.58	0.32
LDH (U/l)	27	230.30±98.34	22	237.18±103.73	5	200.00±70.39	0.40
<b>Ionograma</b>							
Na <sup>2+</sup> (mmol/l)	27	139.30±2.49	22	139.45±2.15	5	138.60±3.91	0.59
K <sup>+</sup> (mmol/l)	27	4.48±0.54	22	4.43±0.57	5	4.70±0.42	0.23
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	27	9.63±0.38	22	9.64±0.40	5	9.60±0.23	0.93
Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	27	98.19±19.64	22	97.09±21.62	5	103.00±3.94	0.27
Osmolalidade (mOsm/kg)	27	289.78±21.08	22	287.00±6.85	5	253.40±38.64	<0.01

HDL: Desidrogenase Láctica; PCR: Proteína C Reativa; TGO: Transaminase Glutâmico Oxaloacética  
TGP: Transaminase Glutâmico Pirúvica; Gama-GT: Gama Glutamiltransferase; CK: creatina kinase  
LDH: Lactato Desidrogenase Na<sup>2+</sup>: ião sódio; K<sup>+</sup>: ião potássio; Ca<sup>2+</sup>: ião cálcio; Cl<sup>-</sup>: ião cloro; mg/dl  
miligramas por decilitro; g/dl: gramas por decilitro; U/l: unidades por litro; mmol/l: milimoles por litro;  
mOsm/kg: miliosmosles por kilograma.

**Tabela 16.1: Comparação das populações tendo em conta as análises clínicas (Hemograma)**

Parâmetros	População Geral		População sem rejeição		População com rejeição		p
	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	Média ± DP	
Hemograma							
Eritrócitos ( $\times 10^{12}/l$ )	27	4.12±0.53	22	4.10±0.56	5	4.18±0.37	0.51
Hb (g/dl)	27	12.61±1.48	22	12.65±1.54	5	12.48±1.34	0.76
HCT (%)	27	38.44±4.33	22	38.48±4.51	5	38.30±3.87	0.78
VCM (fl)	27	93.65±4.33	22	94.16±5.09	5	91.40±3.90	0.24
Leucócitos ( $\times 10^9/l$ )	27	8.02±2.82	22	7.92±2.96	5	8.46±2.35	0.80
Neutrófilos ( $\times 10^9/l$ )	17	67.98±9.74	14	67.11±9.51	3	72.00±11.90	0.53
Eosinófilos ( $\times 10^9/l$ )	17	1.44±0.92	14	1.41±0.93	3	1.53±1.09	0.85
Basófilos ( $\times 10^9/l$ )	16	1.07±2.13	13	0.52±0.24	3	3.40±4.85	0.19
Linfócitos ( $\times 10^9/l$ )	17	22.29±9.14	14	23.52±9.14	3	16.57±8.09	0.26
Monócitos ( $\times 10^9/l$ )	17	9.26±5.73	14	9.28±6.22	3	9.20±3.30	0.57
Plaquetas ( $\times 10^9/l$ )	27	222.22±64.22	22	214.23±48.76	5	257.40±111.47	0.49
VSG1H (mm/h)	16	11.50±6.94	14	9.86±5.56	2	23.00±4.24	0.03

Hb: Hemoglobina; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; VSG1H: Velocidade de Sedimentação Eritrocitária na 1ª Hora;  $\times 10^{12}/l$ : vezes  $10^{12}$  por litro; g/dl: gramas por decilitro; %: percento; fl: fentolitro;  $\times 10^9/l$ : vezes  $10^9$  por litro; mm/h: milímetros por hora.

Da análise feita ao Ionograma observamos que o balanço hídrico, dado pela Osmolalidade, evidencia valores significativamente menores no grupo com Rejeição aguda ( $p < 0.01$ ). No entanto, verificamos também um aumento dos iões  $K^+$  e  $Cl^-$  neste mesmo grupo.

O Hemograma demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, no que diz respeito à VSG1H, sendo que os doentes com Rejeição aguda apresentaram valores mais elevados ( $p=0.03$ ). Os constituintes celulares como, os Eritrócitos, os Leucócitos, os Neutrófilos, os Eosinófilos, os Basófilos e as Plaquetas também se apresentaram mais elevados neste grupo, apesar da ausência de significância estatística ( $p > 0.05$ ).

Em relação ao ecocardiograma, verificamos que as medidas relacionadas às diferentes estruturas cardíacas, não diferiram significativamente entre os grupos. À exceção do diâmetro diastólico do septo interventricular que revelou ser significativamente maior no grupo de doentes com rejeição ( $p=0.03$ ).

**Tabela 17: Comparação das populações tendo em conta a análise ecocardiográfica**

Parâmetros	População Geral		População sem rejeição		População com rejeição		p
	ECO	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	
DDVD (mm)	21	26.83±6.55	17	27.26±6.82	4	25.00±5.66	0.65
DDVE (mm)	25	48.16±5.23	20	48.60±4.95	5	46.40±6.54	0.45
DSVE (mm)	23	29.00±8.45	18	30.83±6.91	5	22.40±10.95	0.15
DDPPVE (mm)	22	8.82±2.20	17	8.35±1.41	5	10.40±3.64	0.16
DDSIV (mm)	22	10.14±2.17	17	9.47±1.37	5	12.40±2.97	0.03
F.enc (%)	20	40.65±8.53	16	40.81±9.25	4	40.00±5.72	0.92
F.ej. (%)	24	67.58±8.98	19	67.89±8.76	5	66.40±10.78	0.75

*DP: Desvio-Padrão; DDVD: Diâmetro Diastólico do Ventrículo Direito; DDVE: Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo; DSVE: Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo; DDPPVE: Diâmetro Diastólico da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo; DDSIV: Diâmetro Diastólico do Septo Interventricular; F.enc: Fração de Encurtamento; F.ej: Fração de Ejeção.*

Com base numa análise comparativa entre os grupos que apresentaram ausência ou presença de Rejeição aguda, para os parâmetros eletrocardiográficos, (Tabela 18) verificamos que os resultados entre os grupos foram semelhantes ( $p > 0.05$ ). No entanto, verificamos que existem diferenças tendencialmente significativas ( $p=0.07$ ) entre os grupos, no que diz respeito ao valor do eixo elétrico, onde podemos constatar que a população sem rejeição apresenta tendencialmente o eixo elétrico voltado para a esquerda.

**Tabela18: Comparação das populações tendo em conta a análise eletrocardiográfica**

Parâmetro	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	p
ECG	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
FC (bpm)	80.96±11.36	81.22±11.25	79.80±13.18	0.63
Eixo elétrico (graus)	8.89±53.50	-0.22±51.41	50.80±45.95	0.07
Onda P (ms)	103.14±15.36	102.09±15.52	108.00±15.28	0.42
PR em DII (ms)	164.50±23.63	164.87±23.76	162.80±25.64	0.83
Complexo QRS (ms)	110.93±24.88	109.17±23.02	119.00±34.13	0.53
QTc (ms)	435.82±26.13	432.09±22.65	453.00±26.13	0.21
TpTe (ms)	73.14±15.43	73.65±16.52	70.80±9.86	0.88
Dispersão QT (ms)	27.61±18.46	19.20±11,01	29.43±18.46	0.21

FC: Frequência Cardíaca; PR: intervalo PR; QTc: Intervalo QT corrigido á FC; TpTe: Intervalo Tpeak-Tend; bpm: batimentos por minuto; ms: milissegundos.

Utilizando ainda o ECG, verificamos que alguns indivíduos apresentaram sinais sugestivos de fibrose miocárdica.

Tentamos averiguar se a existência deste sinal se relacionava com o diagnóstico de Rejeição aguda utilizando o teste de Qui-Quadrado.

**Tabela19: Comparação das populações quanto à presença de fibrose miocárdica**

Parâmetro		População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)
<b>ECG</b>			
Fibrose	Não	19 (67.9%)	1(3.6%)
	Sim	4 (14.3%)	4 (14.3%)
<b>Total</b>		23 (82.1%)	5 (17.9%)

$$\chi^2 = 7.89; p = 0.02$$

Recorrendo ao teste exato de Fisher (dado que o resultado do teste de Qui-Quadrado só deveria ser tomado em conta se não existissem mais de 50% das células com valores inferiores a 5) pudemos constatar, com um nível de significância de  $p=0.02$ , que as variáveis Rejeição aguda e fibrose estão relacionadas.

A força desta associação foi avaliada recorrendo à correlação de Spearman (Tabela 20), que demonstrou a existência de uma relação moderada e positiva entre o diagnóstico de Rejeição

aguda e os sinais de fibrose. Com base na Tabela 19, pudemos ainda verificar que 4/5 dos doentes com sinais de fibrose apresentaram Rejeição aguda.

**Tabela 20: Força de associação entre a rejeição e a presença de fibrose no ECG**

	Valor	<i>p</i>
<b>Correlação de Spearman</b>	<b>0.53</b>	<b>&lt;0.01</b>

Ainda com o ECG convencional, tentamos perceber se o grau de bloqueio de ramo direito estaria relacionado com o aumento das resistências pulmonares e das resistências pulmonares totais registadas durante o cateterismo de realização da Biópsia.

Pela análise da tabela seguinte aferimos que não existiam diferenças significativas entre os graus de bloqueio de ramo direito e os valores das resistências pulmonares.

**Tabela 21: Comparação das populações tendo em conta os valores das resistências pulmonares**

Parâmetro	População com BRD (N=11)	População com BCRD (N=5)	População com BIRD (N=6)	<i>t</i>	<i>p</i>
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP		
RVP (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )	127.69±87.07	116.19±96.17	137.28±86.72	-0.38	0.27
RPT (dynes*s*cm <sup>-5</sup> )	302.45±83.96	277.68±115.38	323.10±48.18	-0.88	0,47

*BRD: Bloqueio de ramo direito; BCRD: Bloqueio Completo de ramo direito; BIRD: Bloqueio incompleto de ramo direito; RVP: Resistências Vasculares Pulmonares; RPT: Resistências Pulmonares Totais; dynes\*s\*cm<sup>-5</sup>: dynes vezes segundo vezes centímetro elevado a -5.*

A aquisição do ECG de alta resolução foi realizada em todos os doentes, e como tal, tentamos perceber se existiam diferenças significativas dos parâmetros em relação aos dois grupos estudados (*i.e*, sem e com Rejeição aguda) (Tabela 22).

**Tabela 22: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (Potencias Tardios)**

Parâmetro	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	p
ECGAR	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Onda Pf (ms)	126.75±10.96	126.56±11.51	127.60±9.02	0.97
RMS20 (µV)	6,69±4,13	6.54±4.08	7.38±4.80	0.65
Nº de entalhes da Onda Pf	13.54±2.03	13.65±2.06	13.00±2.00	0.41
QRSf (ms)	122,54±21,81	120.30±22.19	132.80±18.50	0.27
RMS40 (µV)	20,43±14,10	21.39±13.81	16.00±16.22	0.08
LAS 40 (ms)	47,39±21,85	47.13±22.04	48.60±23.38	0.95
Nº de entalhes do QRSf	12.96±3.02	12.70±3.01	14.20±3.11	0.36
Ruído (µV)	0.63±0.28	0.64±0.26	0.59±0.38	0.45

*ECGAR: ECG de Alta Resolução; Pf: Onda P filtrada; RMS20: Voltagem nos últimos 20 ms da onda Pf; QRSf: complexo QRS filtrado; RMS40: Voltagem nos últimos 40 ms do complexo QRSf; LAS40: Duração do sinal terminal do QRSf inferior a 40 µV; ms: milissegundos; µV: microvoltes.*

Da análise realizada à Tabela 22 constatamos que os vários parâmetros medidos não diferem significativamente entre os grupos. No entanto, analisando o parâmetro ligado à RMS40 verificamos que existem diferenças tendencialmente significativas ( $p=0.08$ ) entre os grupos, evidenciando valores mais baixos no grupo de doentes com Rejeição aguda.

Apesar da ausência da significância estatística, constatamos ainda que todos os parâmetros ligados à duração do sinal eletrocardiográfico demonstram valores mais elevados no grupo com rejeição.

Os parâmetros referentes à VFC também foram sujeitos a análise (Tabela 23 e 23.1), tendo sido verificado somente no parâmetro ligado à rMSSD RR, diferenças tendencialmente significativas entre os grupos ( $p=0.07$ ), com uma diminuição dos valores no grupo com Rejeição aguda.

Pela análise da Tabela 23, é notório também, um aumento da LF RR e uma diminuição da HF RR no grupo de doentes com rejeição.

**Tabela 23: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (VFC- RR)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	p
VFC	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
RRmax (ms)	780,92±116,11	780.61±118.78	782.40±115.74	0.86
RRmin (ms)	729,71±103,90	726.87±102.92	742.80±119.76	0.61
RRmedio (ms)	755,89±110,10	754.78±111.17	761.00±117.54	0.70
FCmédia (bpm)	80,43±11,67	80.52±11.65	80.00±13.15	0.72
SDNN RR (ms)	11,05±14,78	12.12±16.12	6.12±2.70	0.27
rMSSD RR (ms)	8,75±4,83	9.46±5.03	5.45±1.29	0.07
HRVtriang	3,39±1,57	3.54±1.65	2.72±1.01	0.40
NN50 RR	0,29±1,18	0.35±1.30	0.00	0.50
pNN50 RR	0,14±0,59	0.17±0.65	0.00	0.50
VLF RR (ms <sup>2</sup> )	177,22±142,98	173.27±131.79	195.42±204.85	0.93
LF RR (ms <sup>2</sup> )	89,51±76,62	84.67±78.13	111.76±72.80	0.16
HF RR (ms <sup>2</sup> )	212,38±139,29	217.65±138.03	188.13±159.02	0.57
LFHF RR (ms <sup>2</sup> )	0,64±0,60	0.57±0.55	0.96±0.80	0.22
TP RR (ms <sup>2</sup> )	513,71±135,31	515.57±134.55	505.16±154.60	0.88

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; RR: Intervalo RR; max: máximo; min: mínimo; FC: frequência cardíaca; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; HRVtriang: número total de intervalos RR dividido pela altura dos histogramas NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; ms: milissegundos; bpm: batimentos por minuto; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.



**Tabela 23.1: Comparação das populações tendo em conta as variáveis de ECG de alta resolução (VFC- QT)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	p
VFC	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
QT min (ms)	348,50±32,73	346.43±34.17	358.00±25.92	0.37
QT médio (ms)	384,50±37,25	382.74±38.50	392.60±33.38	0.55
SDNN QT (ms)	17,28±13,15	18.02±13.83	13.90±9.89	0.37
rMSSD QT (ms)	22,53±15,26	23.32±15.82	18.89±13.25	0.49
QTVtriang	4,83±2,50	4.91±2.63	4.50±1.95	0.81
NN50 QT	6,54±9,64	6.52±8.79	6.60±14.21	0.31
pNN50 QT	3,27±4,85	3.25±4.40	3.37±7.25	0.34
QTVI RR	1,51±0,47	1.48±0.49	1.68±0.32	0.31
QTVI FC	-1,44±0,19	-1.43±0.20	-1.46±0.16	0.81
QTVN%	0,31±0,10	0.32±0.11	0.28±0.06	0.47
VLF QT (ms <sup>2</sup> )	58,90±37,92	59.61±40.71	55.62±24.02	0.79
LF QT (ms <sup>2</sup> )	126,50±32,95	127.70±35.24	121.01±21.29	0.98
HF QT (ms <sup>2</sup> )	256,47±74,35	260.57±79.20	237.61±47.65	0.70
LFHF QT (ms <sup>2</sup> )	0,54±0,22	0.54±0.23	0.52±0.14	0.83
TP QT (ms <sup>2</sup> )	446,93±77,67	452.27±83.74	422.38±35.12	0.53

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; QT: Intervalo QT; Max: máximo; min: mínimo; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; QTVI FC: índice de variabilidade do QT corrigido á FC; QTVN%: Índice de variabilidade do QT corrigido á totalidade dos intervalos RR; ms: milissegundos; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.

### • 3.1- Análise da concordância entre os Potenciais Tardios e a Rejeição aguda

Pelo facto de somente 5 doentes (17.9%) revelarem presença de Rejeição aguda, tentamos perceber se existia concordância entre este quadro e a presença de PT, atendendo ao diagnóstico do ECG de alta resolução segundo os critérios dos vários autores. (Quadro 4 - anexo).

Verificamos que o valor preditivo negativo (VPN) foi bastante satisfatório, baseado nos critérios de diagnóstico para PT dos diversos autores, no entanto constatou-se uma fraca

concordância de resultados entre o diagnóstico de Rejeição aguda e a presença de PT ( $k < 0.3$ ;  $p > 0.1$ ).

Decidimos, portanto, verificar isoladamente, a concordância de cada parâmetro com o diagnóstico de Rejeição aguda, inicialmente para os PT auriculares (Quadro 5- anexo) e posteriormente para os ventriculares (Quadro 6 -anexo). Apesar do VPN continuar a ser satisfatório, a falta de significância estatística e o reduzido valor de Kappa não permitiram aferir estes critérios como sendo bons para o diagnóstico de rejeição aguda.

### 3.2- Análise Exploratória dos dados

Por meio de uma regressão logística simples, foi determinado o *Odds Ratio* (OR) das variáveis que demonstraram diferenças significativas entre os grupos e que poderiam fazer parte de um possível Score de Probabilidades para a ocorrência de Rejeição aguda (Tabela 24).

**Tabela 24: Regressão Logística univariada dos parâmetros que apresentaram diferenças significativas em função do diagnóstico de Rejeição aguda**

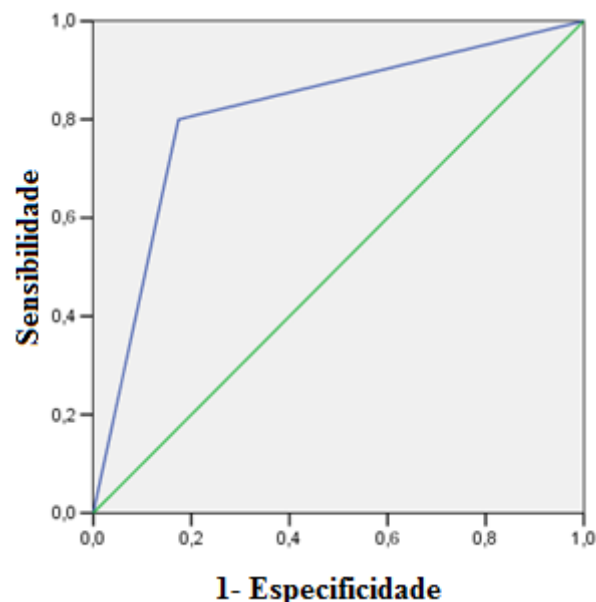
Parâmetros	<i>p</i>	OR	IC 95%
<b>Bioquímica</b>			
Albumina	0.09	0.06	[0.00-1.62]
Osmolalidade	0.17	0.79	[0.57-1.10]
VSG1 <sup>a</sup> H	1.00	248.28	0
<b>ECO</b>			
DDSIV	0.06	2.23	[0.97-5.16]
<b>ECG</b>			
Eixo elétrico	0.08	1.02	[1.00-1.05]
Fibrose	0.02	19.00	[1.65-218.47]
<b>ECGAR</b>			
RMS40	0.44	0.97	[0.89-1.05]
<b>VFC</b>			
rMSSD RR	0.12	0.72	[0.48-1.09]

VSG1<sup>a</sup>H: Velocidade de Sedimentação eritrocitária na 1<sup>a</sup> Hora; DDSIV: Diâmetro Diastólico do Septo Interventricular; RMS40: Voltagem do sinal nos últimos 40 ms do QRS filtrado; rMSSD RR: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre Intervalos RR sucessivos.

À exceção dos sinais de fibrose, da análise feita à Tabela 24 verificamos que todos as variáveis apresentaram um fraco valor estatístico no que se refere às diferenças encontradas entre grupos, não existindo deste modo qualquer tipo de associação com o diagnóstico de Rejeição aguda.

Por regressão logística, verificamos que a presença de fibrose no ECG aumenta 19 vezes mais o risco de rejeição ( $p=0.02$ ).

Através de uma curva ROC avaliou-se a robustez da associação da fibrose com a Rejeição aguda. Identificou um ponto de corte com sensibilidade =80% e uma especificidade =82.6% e uma área sob a curva de 0.81, traduzindo deste modo uma boa capacidade para discriminar os doentes transplantados com e sem rejeição ( $p=0.03$ ) (Gráfico 1).



**Gráfico 1: Curva ROC referente à associação da Fibrose com a Rejeição aguda**

Uma vez que a variável fibrose foi a única a demonstrar associação com o diagnóstico de Rejeição aguda, tornou-se impossível a realização de um Score de risco. Deste modo, foi realizada uma análise comparada entre as várias variáveis em estudo tendo em conta o diagnóstico positivo de rejeição, em pelo menos um procedimento, com base na totalidade das Biópsias (Rejeição pm1).

#### • 4. Análise comparada- Rejeição pm1

A prevalência da Rejeição pm1 (64.2%), presente em 18 pacientes da nossa população apresentou-se bastante mais elevada do que a Rejeição aguda (Tabela 25).

Nestes 18 pacientes verificou-se que a prevalência de rejeição no primeiro ano após o transplante foi de 91.3%.

**Tabela 25: Número de Biópsias realizadas com rejeição até ao dia do registo.**

Nº de Biópsias com rejeição	População N (%)
0	10 (35.7)
1	13 (46.4)
2	3 (10.7)
3	2 (7.1)

O grau máximo de severidade da rejeição nestes doentes foi classificado em 53.6% dos casos como grau 1R, e em 7.1% como grau 2R. Num caso somente, registou-se um quadro de rejeição humoral (Tabela 26).

**Tabela 26: Severidade máxima da rejeição na totalidade das Biópsias realizadas**

Severidade máxima da rejeição	População N (%)
AMR1	1 (3.6)
1R	15 (53.6)
2R	2 (7.1)

*AMR1: Rejeição mediada por anticorpos leve; 1R: Rejeição celular leve; 2R: Rejeição celular moderada*

Tentamos verificar se os resultados diferiam significativamente entre os grupos tendo em conta desta vez, o diagnóstico da Rejeição pml.

Para as variáveis clínicas e fatores de risco cardiovasculares, utilizando o teste de Fisher, (dado que o resultado do teste de Qui-Quadrado só deveria ser tomado em conta se o valor esperado nas células da tabela fossem superiores a 5) comprovamos que não existiam diferenças significativas entre os grupos com e sem Rejeição pm1 (Tabela 27).

Contudo, foi possível observar diferenças tendencialmente significativas no que diz respeito ao grupo sanguíneo entre os grupos ( $p=0.09$ ). Verificou-se que todos os indivíduos com Rejeição pm1 tinham grupo sanguíneo A.

**Tabela 27: Comparação das variáveis clínicas em função do diagnóstico de Rejeição pm1**

Parâmetro (N=28)		População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	$\chi^2$	<i>p</i>
Género	Masculino	9 (32.1%)	14 (50%)	0.66	0.63
	Feminino	1 (3.6%)	4 (14.3%)		
GS	A+	2 (7.1%)	8 (28.6%)	7.62	0.09
	A-	1 (3.6%)	6 (21.4%)		
	B+	1 (3.6%)	0		
	AB+	1 (3.6%)	0		
	O+	5 (17.9%)	4 (14.3%)		
Indicação para Transplante	MH	0	3 (10.7%)	6.15	0.20
	MD	3 (10.7%)	7 (25%)		
	MI	5 (17.9%)	7 (25%)		
	MR	2 (7.1%)	0		
	DAVD	0	1 (3.6%)		
DM	Não	8 (28.6%)	16 (57.1%)	4.15	0.60
	Sim	2 (7.1%)	2 (7.1%)		
Dislipidemia	Não	6 (21.4%)	11 (39.3%)	<0.01	1
	Sim	4 (14.3%)	7 (25%)		
HTA	Não	6 (21.4%)	15 (53.6%)	1.87	0.21
	Sim	4 (14.3%)	3 (10.7%)		
AVC/AIT	Não	10 (35.7%)	15 (53.6%)	1.87	0.69
	Sim	0	3 (10.7%)		
		População sem rejeição (N=9)	População com rejeição (N=14)		
HTP (N=23)	Não	6 (21.4%)	6 (21.4%)	1.25	0.4
	Sim	3 (10.7%)	8 (28.6%)		

GS: Grupo Sanguíneo; MH: Miocardiopatia Hipertrófica; MD: Miocardiopatia Dilatada; MI: Miocardiopatia Isquémica; MR: Miocardiopatia Restritiva; DAVD: Displasia Arritmogénica do Ventrículo Direito; DM: Diabetes Mellitus; HTA: Hipertensão Arterial; AVC/AIT: Acidentes Vasculares Cerebrais; HTP: Hipertensão Pulmonar.

Em termos de medicação imunossupressora utilizada, constatamos pela análise da Tabela 28 que não existem diferenças significativas entre os grupos.

**Tabela 28: Comparação em termos de medicação imunossupressora atendendo o diagnóstico de Rejeição pm1**

Medicação		População sem rejeição (N=23)	População com rejeição (N=5)	$\chi^2$	$p$
CyA	Não	2 (7.1%)	4 (14.3)	0.02	1
	Sim	8 (28.6%)	14 (50%)		
MMF	Não	2 (7.1%)	2 (7.1%)	0.42	0.60
	Sim	8 (28.6%)	16 (57.1%)		
Corticóides	Não	1 (3.6%)	1 (3.6%)	0.19	1
	Sim	9 (32.1%)	17 (60.7%)		
Tacrolimus	Não	8 (28.6%)	13 (46.4%)	0.21	1
	Sim	2 (7.1%)	5 (17.9%)		
S/E'limus	Não	8 (28.6%)	16 (57.1%)	0.42	0.60
	Sim	2 (7.1%)	2 (7.1%)		

*CyA: Ciclosporina; MMF: Micofenolato de Mofetil; S/E'limus: Sirolimus/Everolimus*

Comparando as pressões intracavitárias direitas, verificamos que não existem diferenças significativas entre os grupos em análise (Tabela 29), contudo é possível verificar um aumento das pressões da AD no grupo de doentes com Rejeição pm1.

**Tabela 29: Comparação entre os grupos tendo em conta as pressões intracavitárias direitas**

Pressões (mmHg)	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	$p$
<b>VD</b>				
Sistólica	33.74±6.93	33.90±6.59	33.65±7.32	0.73
Telediastólica	7.70±2.88	6.70±1.70	8.29±3.29	0.26
<b>AD</b>				
Média	6.63±2.88	6.50±2.07	6.76±3.23	0.82

*VD: Ventrículo direito; AD: Aurícula Direita; mmHg: milímetros de mercúrio.*

Tendo em conta a fibrose miocárdica, tentamos perceber se a presença deste sinal no ECG de superfície no dia do registo era significativamente divergente entre os grupos com e sem Rejeição pm1 (Tabela 30).

**Tabela 30: Comparação entre os grupos tendo em conta os sinais de fibrose no ECG**

Parâmetro		População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)
<b>ECG</b>			
Fibrose miocárdica	Não	10 (35.7)	10 (35.7)
	Sim	0	8 (28.6)
<b>Total</b>		10 (35.7)	18 (64.3)

$$\chi^2=6.22 ; p=0.03$$

Pelo teste de Fisher, com um nível de significância  $p=0.03$ , constatamos que todos os doentes que apresentaram sinais eletrocardiográficos de fibrose, já tiveram pelo menos um episódio de rejeição nas Biópsias realizadas, verificando-se a existência de uma relação moderada e positiva entre esse diagnóstico e os sinais de fibrose ( $\rho=0.47; p=0.01$ ) (Tabela 31).

**Tabela 31: Relação entre a fibrose e a Rejeição pm1**

	Valor	<i>p</i>
<b>Correlação de Spearman</b>	0.47	0.01

Atendendo aos parâmetros de ECG convencional, apesar da ausência de significância estatística verificamos que a duração do complexo QRS era mais elevada no grupo com Rejeição pm1 (Tabela 32).

**Tabela 32: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG**

Parâmetro	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	<i>p</i>
<b>ECG</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>Média ± DP</b>	
FC (bpm)	80.96±11.36	81.00±10.12	80.94±12.28	0.96
Eixo elétrico (graus)	8.89±53.50	13.40±52.98	6.39±55.15	0.77
Onda P (ms)	103.14±15.36	100.70±13.00	104.50±16.73	0.50
PR em DII (ms)	164.50±23.63	159.70±22.51	167.17±24.44	0.47
Complexo QRS (ms)	110.93±24.88	101.10±24.02	116.39±24.28	0.12
QTc (ms)	435.82±26.13	435.20±22.32	436.17±28.64	0.92
TpTe (ms)	73.14±15.43	77.20±15.47	70.89±15.37	0.29
Dispersão QT (ms)	27.61±18.46	30.10±24.65	26.22±14.61	0.87

FC: frequência Cardíaca; PR: Intervalo PR; QTc: Intervalo QT corrigido à FC; TpTe: Intervalo TPeak-Tend.

Estas diferenças foram clarificadas pela duração do QRSf, no ECG de alta resolução, que evidenciou diferenças tendencialmente significativas ( $p=0.08$ ) entre os grupos (Tabela 33), observando-se um aumento no grupo com Rejeição pm1.

**Tabela 33: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (Potenciais Tardios)**

Parâmetro	População geral (N=28)	População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	$p$
ECGAR	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
Onda Pf (ms)	126.75 $\pm$ 10.96	128.60 $\pm$ 10.91	125.72 $\pm$ 11.17	0.36
RMS20 ( $\mu$ V)	6,69 $\pm$ 4,13	6.59 $\pm$ 3.54	6.74 $\pm$ 4.52	0.74
Nº de entalhes da Onda Pf	13.54 $\pm$ 2.03	13.80 $\pm$ 1.62	13.39 $\pm$ 2.25	0.54
QRSf (ms)	122,54 $\pm$ 21,81	112.60 $\pm$ 23.16	128.06 $\pm$ 19.53	0.08
RMS40 ( $\mu$ V)	20,43 $\pm$ 14,10	28.70 $\pm$ 15.68	15.83 $\pm$ 11.09	0.02
LAS 40 (ms)	47,39 $\pm$ 21,85	34.20 $\pm$ 17.02	54.72 $\pm$ 21.10	0.02
Nº de entalhes do QRSf	12.96 $\pm$ 3.02	12.00 $\pm$ 2.62	13.50 $\pm$ 3.17	0.17

*Pf: Onda P filtrada; RMS20: Voltagem dos últimos 20ms da onda P filtrada; QRSf: Complexo QRS filtrado; RMS40: Voltagem dos últimos 40 ms do complexo QRSf; LAS40: Duração do sinal terminal inferior a 40 $\mu$ V.*

A RMS40 diferiu significativamente entre os grupos ( $p=0.02$ ) apresentando valores mais deprimidos no grupo com Rejeição pm1. Outra variável a apresentar diferenças significativas foi a LAS40 ( $p=0.02$ ) exibindo-se mais elevada no grupo de doentes com rejeição.

Pela análise da Tabela 33 pudemos ainda constatar que o número de entalhes do QRSf foi superior nos doentes com Rejeição pm1, apesar da significância estatística ( $p=0.17$ )

Da realização da análise comparativa entre os grupos tendo em conta os parâmetros da VFC, os resultados estão apresentados na Tabela 34 e 34.1.



**Tabela 34: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (VFC- RR)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	p
VFC	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
RRmax (ms)	780,92±116,11	781.00±120.02	780.89±117.41	0.96
RRmin (ms)	729,71±103,90	733.60±98.01	727.56±109.75	1.00
RRmedio (ms)	755,89±110,10	758.80±111.73	754.27±112.41	0.96
FCmédia (bpm)	80,43±11,67	79.90±11.16	80.72±12.26	0.94
SDNN RR (ms)	11,05±14,78	8.54±6.21	12.45±17.91	0.57
rMSSD RR (ms)	8,75±4,83	8.62±5.50	8.82±4.58	0.74
HRVtriang	3,39±1,57	3.48±1.89	3.35±1.43	0.98
NN50 RR	0,29±1,18	0.60±1.90	0.11±0.47	0.63
pNN50 RR	0,14±0,59	0.30±0.95	0.06±0.24	0.63
VLF RR (ms <sup>2</sup> )	177,22±142,98	139.93±149.32	197.94±139.26	0.16
LF RR (ms <sup>2</sup> )	89,51±76,62	81.37±88.48	94.03±71.55	0.25
HF RR (ms <sup>2</sup> )	212,38±139,29	303.89±165.82	161.54±92.72	0.02
LFHF RR (ms <sup>2</sup> )	0,64±0,60	0.41±0.48	0.76±0.64	0.07
TP RR (ms <sup>2</sup> )	513,71±135,31	562.19±68.10	486.78±156.43	0.42

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; RR: Intervalo RR; max: máximo; min: mínimo; FC: frequência cardíaca; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; HRVtriang: número total de intervalos RR dividido pela altura dos histogramas NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; ms: milissegundos; bpm: batimentos por minuto; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.

**Tabela 34.1: Avaliação das diferenças entre os grupos tendo em conta os parâmetros de ECG de alta resolução (VFC- QT)**

Parâmetros	População Geral (N=28)	População sem rejeição (N=10)	População com rejeição (N=18)	p
VFC	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
QT min (ms)	348,50±32,73	348.40±37.00	348.56±31.25	0.91
QT médio (ms)	384,50±37,25	381.80±32.71	386.00±40.38	0.60
SDNN QT (ms)	17,28±13,15	20.73±19.38	15.37±8.06	0.74
rMSSD QT (ms)	22,53±15,26	25.81±21.01	20.71±11.24	0.81
QTVtriang	4,83±2,50	4.53±1.99	5.00±2.78	0.65
NN50 QT	6,54±9,64	7.40±10.85	6.06±9.19	0.71
pNN50 QT	3,27±4,85	3.70±5.43	3.04±4.65	0.73
QTVI RR	1,51±0,47	1.55±0.62	1.50±0.38	0.74
QTVI FC	-1,44±0,19	-1.52±0.12	-1.40±0.21	0.17
QTVN%	0,31±0,10	0.30±0.11	0.32±0.10	0.35
VLF QT (ms <sup>2</sup> )	58,90±37,92	65.67±54.27	55.14±26.13	0.89
LF QT (ms <sup>2</sup> )	126,50±32,95	132.63±34.72	123.10±32.44	0.60
HF QT (ms <sup>2</sup> )	256,47±74,35	216.62±62.93	278.62±72.32	0.02
LFHF QT (ms <sup>2</sup> )	0,54±0,22	0.65±0.24	0.47±0.18	0.04
TP QT (ms <sup>2</sup> )	446,93±77,67	421.00±101.16	461.34±59.56	0.09

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; QT: Intervalo QT; FC: frequência cardíaca; SDNN: Desvio Padrão; rMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças; NN50: número de diferenças de intervalos NN consecutivos > a 50 ms; pNN50: % dos intervalos NN normais que em relação aos anteriores tenham uma diferença > 50 ms; VLF: muito baixa frequência; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; QTVI FC: índice de variabilidade do QT corrigido á FC; QTVN%: Índice de variabilidade do QT corrigido á totalidade dos intervalos RR; ms: milissegundos; ms<sup>2</sup>: milissegundos ao quadrado.

Pela análise realizada à Tabela 34 e 34.1, verificamos que existem diferenças significativas entre os grupos no que diz respeito às componentes de alta frequência do intervalo RR e do intervalo QT, assumindo um nível de significância de 2% em ambos os parâmetros. Tal facto justifica as diferenças encontradas, no que se refere ao balanço simpático-vagal do intervalo RR (p=0.07) e do intervalo QT (p=0.04).

A Potencia espectral do intervalo QT também assume diferenças tendencialmente significativas entre os grupos (p=0.09).

- **4.1 Análise da concordância entre os Potenciais Tardios e a Rejeição pm1**

Avaliamos a existência de concordância de resultados entre o diagnóstico de Rejeição pm1 e a presença de PT.

Baseando-nos no diagnóstico de PT segundo os vários autores (Quadro 7- anexo), verificamos que os Valores Preditivos Positivos (VPP) foram bastante satisfatórios, apresentando portanto, uma melhor capacidade para identificar a doença. Apesar da maioria dos critérios terem revelado uma concordância fraca com o diagnóstico de Rejeição pm1, para os critérios formulados pela ACC observou-se uma concordância moderada entre esse diagnóstico e a presença de PT ventriculares no traçado de ECG de alta resolução ( $k=0.44$ ;  $p=0.02$ ).

De igual modo, foram analisados isoladamente cada critério, tanto auriculares (Quadro 8- anexo) como ventriculares (Quadro 9-anexo).

Para os PT auriculares continuou a verificar-se a falta de significância estatística e reduzidos valores de Kappa, tendo sido impossível aferir com certeza a existência de concordância entre estes critérios e o diagnóstico de Rejeição pm1.

No que diz respeito aos critérios formulados pelos diversos autores para a presença PT ventriculares, verificamos que em todos eles existe uma elevação mais pronunciada dos VPP em relação aos VPN. Contudo, é visível também uma melhor precisão do diagnóstico da RMS40 e LAS40 comparativamente à QRSf.

Para o critério ligado à QRSf segundo os vários autores, apesar do  $k < 0.3$ , não foi possível verificar a existência de concordância entre este parâmetro e o diagnóstico de Rejeição pm1 ( $p > 0.1$ ).

Para a RMS40, verificamos que os critérios formulados pela ACC e por Brembilla foram os que revelaram uma concordância mais coesa ( $k=0.44$ ) com o diagnóstico de Rejeição pm1 ( $p=0.02$ ).

Os critérios que dizem respeito à LAS40, segundo os diversos autores, foram os que demonstraram uma melhor concordância com o diagnóstico de Rejeição pm1, no entanto, foi o critério formulado por Gatzoulis que revelou, uma concordância de resultados mais forte ( $k=0.45$ ) com um nível de significância mais elevado ( $p=0.01$ ).

### 4.3 Análise exploratória dos dados

A escolha das variáveis possíveis de fazerem parte do score de risco, baseou-se numa primeira parte na existência de diferenças significativas entre os grupos com e sem Rejeição pm1, e numa segunda parte na análise de uma regressão logística univariada, onde se determinou o OR.

**Tabela 35: Regressão Logística univariada dos parâmetros que apresentaram diferenças significativas em função do diagnóstico de Rejeição pm1**

Parâmetros		p	OR	IC 95%
<b>ECG</b>				
QRS		0.13	1.03	[0.99-1.07]
Fibrose		1.0	0	0
<b>ECGAR</b>				
QRSf		0.08	1.04	[1-1.08]
RMS40		0.03	0.93	[0.87-0.99]
LAS40		0.03	1.06	[1.01-1.11]
<b>VFC</b>				
HFRR		0.02	0.99	[0.98-0.99]
LFHF RR		0.17	3.50	[0.60-20.43]
HFQT		0.05	1.02	[1.00-1.03]
LFHFQT		0.06	0.01	[0.0-1.29]
TPQT		0.19	1.01	[1.00-1.02]
<b>CrITÉrios Gerais</b>				
ACC		0.03	7.5	[1.27-44.09]
Buckingham		0.12	3.67	[0.70-19.12]
Gatzoulis		1.0	0	0
<b>CrITÉrios individuais</b>				
ACC	RMS40≤20	0.03	7.5	[1.28-44.09]
	LAS40≥38	0.03	7.5	[1.28-44.09]
Buckingham	LAS40>45	0.03	8.0	[1.28-50.04]
Brembilla	RMS40≤20	0.03	7.5	[1.28-44.09]
	LAS40≥30	0.07	5	[0.87-28.86]
Gatzoulis	RMS40≤17.5	0.10	3.9	[0.76-19.95]
	LAS40≥50	0.02	14.14	[1.46-137.30]
Nalos	RMS40≤15	0.07	4.67	[0.88-24.80]
	LAS40≥40	0.03	7.5	[1.28-44.09]

QRS: Duração do Complexo QRS; QRSf: Duração do QRS filtrado; RMS40: Voltagem dos últimos 40 ms do complexo QRSf; LAS40: Duração do sinal terminal inferior a 40µV; VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; HF: alta frequência; LFHF: balanço simpático-vagal; TP: Potência espectral; RR: Intervalo RR; QT: Intervalo QT; ACC: CrITÉrios da American College of Cardiology.

Foram selecionadas todas as variáveis, com num nível de significância menor que 10%, (excluindo aquelas que continham a unidade no IC 95%).

De todas as variáveis contínuas, apresentadas na Tabela 35, somente a RMS40, LAS40 e a HFRR demonstraram associação com a Rejeição pm1.

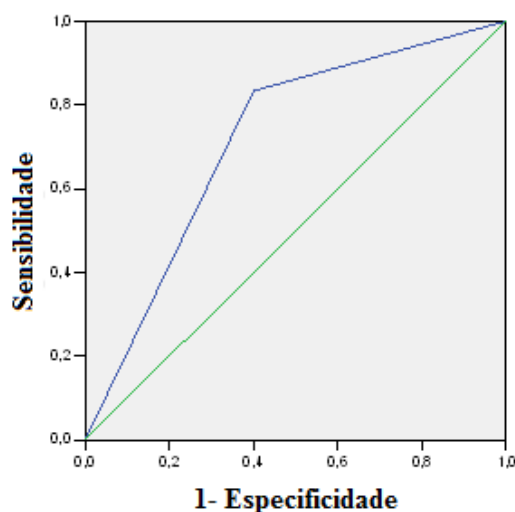
Para cada diminuição de unidade da RMS40, ocorre aumento de 7% do risco de rejeição ( $p=0.03$ ).

O aumento da LAS40 revelou também que aumenta 1.06 vezes mais o risco de rejeição ( $p=0.03$ ).

Para cada diminuição de unidade da HFRR, o risco de rejeição aumenta 1% ( $p=0.02$ ).

Tendo em conta as variáveis categóricas, mais precisamente os critérios gerais de diagnóstico dos PT, verificamos que só os critérios formulados pela ACC é que evidenciam associação com o diagnóstico de Rejeição pm1. Na presença de PT ventriculares, utilizando os critérios da ACC, o risco de rejeição aumenta 7.5 vezes mais.

De forma a verificar a robustez desta associação, identificou-se um ponto de corte com sensibilidade=83.3% e especificidade=60%, revelando na curva ROC uma área sob a curva de 0.72 traduzindo assim numa capacidade moderada para discriminar entre a presença ou a ausência de rejeição nestes doentes transplantados ( $p=0.06$ ).



**Gráfico 2: Curva ROC referente à associação entre os critérios da ACC com a Rejeição pm1**

Visando os critérios individuais para os PT ventriculares, sugeridos pelos vários autores, denotamos existir associação entre a maioria dos parâmetros e o diagnóstico de Rejeição pm1.

Com um nível de significância  $p \leq 0.1$  comprovamos que, quando anormais aumentam o risco de rejeição.

Os parâmetros que evidenciaram as associações mais fortes com a Rejeição pm1 foram a RMS40 (segundo a ACC e Brembilla) e a LAS40 (segundo Gatzoulis). Observando-se um aumento de 7.5 vezes mais do risco de rejeição quando a RMS40 é inferior ou igual a 20  $\mu\text{V}$  ( $p=0.03$ ) e um aumento do risco 14.14 vezes quando a LAS40 é superior ou igual a 50 ms ( $p=0.02$ ).

Os critérios formulados por Buckingham e por Nalos, referentes à LAS40 também revelaram associação com o diagnóstico de Rejeição pm1. Para a LAS40  $\geq 40$  ms o risco de rejeição apresenta-se 7.5 vezes maior, aumentando para 8 vezes mais quando a LAS40  $> 45$  ms (Tabela 36).

**Tabela 36: Valores estatisticamente significativos da Regressão logística univariada**

Parâmetros	$p$	OR	IC 95%
RMS40 $\leq$ 20	0.03	7.5	[1.28-44.09]
LAS40 $\geq$ 38	0.03	7.5	[1.28-44.09]
LAS40 $\geq$ 40	0.03	7.5	[1.28-44.09]
LAS40 $>$ 45	0.03	8.0	[1.28-50.04]
LAS40 $\geq$ 50	0.02	14.14	[1.46-137.30]

*RMS40: Voltagem dos últimos 40 ms do complexo QRSf; LAS40: Duração terminal do QRSf inferior a 40 $\mu\text{V}$ .*

A Tabela 36 diz respeito às variáveis ligadas ao sinal terminal, que revelaram associação com o diagnóstico de Rejeição pm1.

Obedecendo aos critérios gerais da ACC, tanto a RMS40 $\leq$ 20  $\mu\text{V}$  como a LAS40  $\geq$ 38 ms demonstraram o mesmo grau de associação com o diagnóstico de Rejeição pm1 revelando um aumento do risco de 7.5 vezes mais.

Tendo em atenção os valores da LAS40, verificamos também que o risco de rejeição vai aumentando à medida que a duração do sinal terminal aumenta, revelando-se 7.5 vezes mais elevado quando LAS40  $\geq 38$  ms, e duplicando quando LAS 40  $\geq 50$  ms, apresentando um aumento do risco de rejeição 14.14 vezes mais.

### 4.3 Elaboração do Score de risco

Tendo em conta os dados da regressão logística, uma vez que mais do que uma variável demonstrou associação com o diagnóstico de rejeição, propusemo-nos elaborar um Score de risco para a Rejeição pm1.

Como está explícito na parte I, segundo os critérios da ACC quando o  $RMS40 \leq 20 \mu V$  e a  $LAS40 \geq 38$  ms há um diagnóstico positivo para a presença de PT ventriculares.

Deste modo, elaboramos inicialmente um score que engloba-se os critérios gerais da ACC para a presença de PT juntamente com os valores crescentes da LAS40. A atribuição da pontuação teve em conta o valor aproximado do OR para cada variável (Tabela 37).

**Tabela 37: Pontuação atribuída aos critérios incluídos no SCORE1**

Critérios		Pontos
ACC	Sim	8
	Não	0
LAS40	$\geq 50$	14
	[45-50[	8
	[40-45[	8
	[38-40[	8
	[30-38[	5

*ACC: American College of Cardiology; LAS40: Duração Terminal do QRS inferior a  $40\mu V$ .*

Assim, para os critérios da ACC, uma vez que o valor do OR foi de 7.5, atribuímos uma pontuação de 8 para a presença de PT. Na ausência de PT, atribuímos uma pontuação de 0.

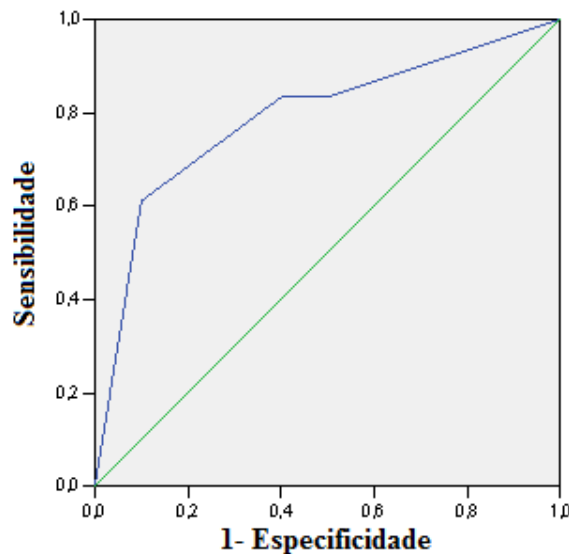
Para a LAS40, recorrendo aos valores do OR, a atribuição de pontos regeu-se pelo mesmo princípio.

Com base nestes pontos foi atribuída uma pontuação a cada doente, elaborando um Score de Risco:

$$\text{SCORE1} = \text{ACC} + \text{LAS40}.$$

De forma a avaliar a capacidade preditiva deste SCORE1 procedemos à realização de uma curva ROC que, para um ponto de corte de sensibilidade de 83.3% e uma especificidade de

60%, demonstrou uma área sob a curva de 0.79 (p=0.01) revelando assim uma boa capacidade para discriminar os doentes com e sem Rejeição pm1.



**Gráfico 3: Curva ROC referente à associação entre o SCORE1 com a Rejeição pm1**

Apesar deste resultado ter-se revelado satisfatório, pensamos em elaborar um novo Score onde adicionamos ao SCORE1 os valores da RMS40. Contudo, percebemos que intrinsecamente, os valores adicionados já estariam implícitos nos pontos atribuídos para os critérios gerais da ACC.

Uma vez que a presença ou ausência dos critérios da ACC só possibilitariam a atribuição de dois valores pontuais, decidimos portanto, elaborar o SCORE 2 recorrendo aos valores da RMS40. Assim o SCORE2= RMS40 + LAS40

Apesar da  $RMS40 \leq 20 \mu V$  ter sido a única variável ligada à amplitude do sinal a revelar associação com o diagnóstico de Rejeição pm1, adicionamos a este SCORE2 os valores de  $RMS40 \leq 17.5 \mu V$  e o  $RMS40 \leq 15 \mu V$ , uma vez que apresentavam valores tendencialmente significativos (p <0.1).

A atribuição de pontos só teve em conta os valores de OR para a  $RMS40 \leq 20 \mu V$ . Para as outras duas condições, em função do decréscimo da RMS40 atribuímos mais um ponto, tal como se verifica na Tabela 38.

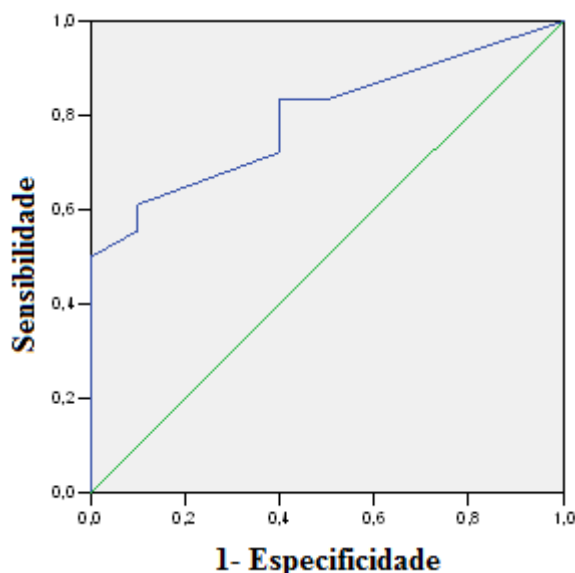


**Tabela 38: Pontuação atribuída aos critérios da RMS40 incluídos no SCORE2**

Critérios		Pontos
RMS40	>20	0
	[17.5-20[	8
	[15-17.5[	9
	<15	10

*RMS40: Voltagem terminal do QRSf nos últimos 40ms.*

Após a atribuição da respetiva pontuação a cada doente atendendo ao SCORE2, avaliamos a capacidade preditiva deste através da realização de uma curva ROC.

**Gráfico 4: Curva ROC referente à associação entre o SCORE2 com a Rejeição pm1**

Para uma área sob a curva de 0.79 ( $p=0.01$ ), verificamos que o SCORE 2 tem uma boa capacidade para discriminar os doentes com e sem Rejeição pm1, utilizando um ponto de corte com uma sensibilidade de 83.3% e uma especificidade de 60%.

Após termos realizado o SCORE 2, elaboramos um novo Score, adicionando a este, variáveis que, pela nossa análise, poderiam melhorar o carácter discriminatório da curva ROC.

Em relação à variável fibrose, verificamos que por regressão logística não existia qualquer tipo de associação com o diagnóstico de Rejeição pm1.

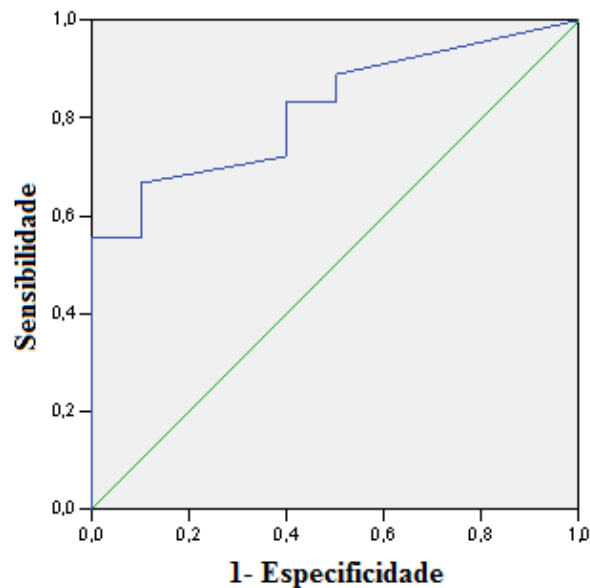
Contudo, uma vez que tínhamos verificado pela análise do teste de Fisher ( $p=0.03$ ) complementado pela análise da correlação de Spearman ( $\rho=0.47$ ;  $p=0.01$ ) a existência de

uma relação moderada e positiva entre esta variável e a Rejeição pm1, decidimos adicionar a variável “Fibrose” ao novo SCORE formulado.

Aos doentes com sinais de fibrose no ECG convencional atribuiu-se 1 ponto e nos doentes sem sinais de fibrose no ECG convencional 0 pontos.

Assim, o SCORE3= SCORE2+ Fibrose.

Para avaliar a capacidade discriminatória entre os doentes com e sem Rejeição pm1, procedeu-se na mesma, à realização de uma Curva ROC, que com uma área sob a curva de 0,82 ( $p < 0.01$ ) e assumindo um ponto de corte de sensibilidade=83.3% e especificidade=60%, demonstrou uma boa capacidade em distinguir os dois grupos em estudo.



**Gráfico 5: Curva ROC referente à associação entre o SCORE3 com a Rejeição pm1**

Verificamos assim que a curva ROC para o SCORE3 é a que apresenta maior poder discriminatório para o diagnóstico de Rejeição pm1.

Com base nos vários pontos de corte pudemos aferir diferentes níveis de probabilidade para a ocorrência de Rejeição pm1 (Tabela 39).

**Tabela 39: Relação entre a atribuição de pontos com a Probabilidade Diagnóstico de Rejeição pm1 tendo em conta o SCORE3**

<b>Pontos</b>	<b>Sensibilidade</b>	<b>Especificidade</b>	<b>Probabilidade Diagnóstica de Rejeição pm1</b>
≥23	55.6%	100%	Confirmada
[18-23[	66.7%	90%	Muito Provável
[11-18[	83.3%	60%	Provável
<11	83.3%	50%	Pouco provável

Pela análise da Tabela 39 verificamos que todos os doentes com uma pontuação superior a 23 pontos têm o diagnóstico de Rejeição confirmado pelo SCORE proposto, em contrapartida, quando inferior a 11 esse diagnóstico passa a apresentar-se pouco provável.

## IV – Discussão e Conclusões

A transplantação cardíaca é o método de eleição para a Insuficiência cardíaca avançada.

Dada à sua forte marca imunológica, esta técnica não é isenta de complicações.

Caracterizada pela produção e proliferação de citocinas e /ou produção de anticorpos que ativam proteínas do sistema complemento, a rejeição constitui um dos principais obstáculos a contornar para o sucesso da transplantação cardíaca.

Atualmente o único método com capacidade de diagnosticar com fiabilidade a rejeição cardíaca após transplante é a Biópsia Endomiocárdica do ventrículo direito no entanto, por vezes descrevem-se inúmeras complicações (como a perfuração miocárdica), que põem em risco a vida do doente.

Devido às zonas miocárdicas de condução lenta e fragmentada causadas pelo processo de rejeição têm sido descritas alterações eletrocardiográficas em vários estudos.

Como objetivo desta investigação prendeu-se avaliar a utilidade do ECG de alta resolução, como método de diagnóstico de rejeição do enxerto cardíaco através da elaboração de um score de risco.

Para tal, à semelhança do que existe nalguns estudos para o diagnóstico de canalopatias, tentou-se elaborar um teste de diagnóstico, com base num score de probabilidades para a ocorrência de rejeição.

A primeira grande limitação encontrada remeteu para a não uniformização dos critérios de normalidade para o diagnóstico dos PT com base no ECG de alta resolução.

Apesar dos critérios da ACC serem os que reúnem mais consenso junto da comunidade científica, carecem de uma validade reduzida, dependente de um valor do QRS basal inferior a 120 ms.

Assim, pelos vários estudos publicados que revelaram a presença de bloqueio de ramo direito em 80-90 % dos doentes transplantados ao coração, foram incorporados na presente investigação outros critérios, formulados por diversos autores, que permitissem validar os traçados com bloqueio de ramo.

Após a análise dos resultados, em que foram estudados 28 doentes transplantados ao coração, 23 do género masculino e 5 do género feminino, com uma média de idades de  $54 \pm 12.22$ ,

verificou-se que a maioria dos indivíduos (42.9%) teve como motivo principal para a realização do transplante cardíaco a Miocardiopatia Isquémica; Observou-se que a maioria dos indivíduos estudados (35.7%) tinha grupo sanguíneo A+ e que 39.3% apresentava como fatores de risco Cardiovasculares a HTP e a dislipidémia.

O seguimento clínico dos doentes foi de  $32.68 \pm 32.89$  meses referindo-se ao tempo compreendido entre a realização do transplante e a aquisição do traçado de ECG de alta resolução após Biópsia Endomiocárdica.

Quanto a alterações eletrocardiográficas, 89.3% dos pacientes apresentaram Bloqueio de ramo direito, estando desta forma em concordância com a literatura analisada (Rothman & Eisen, 2006) e 28.8% dos pacientes revelaram sinais sugestivos de fibrose miocárdica.

Nada até ao momento, está descrito sobre o desenvolvimento do Bloqueio de ramo direito nos doentes transplantados.

Apesar desta anomalia não se relacionar com os episódios de rejeição (Rothman & Eisen, 2006) pensa-se que o bloqueio de ramo direito possa ser a consequência de múltiplos fatores. As elevadas resistências pulmonares, a eficácia do método de proteção miocárdica utilizada no ato da colheita, a deservação autónoma instituída com a técnica cirúrgica, constituem possíveis justificações para o desenvolvimento desta perturbação da condução.

Com base nos dados recolhidos tentamos perceber se existia alguma relação entre a presença de bloqueio de ramo e o aumento das resistências pulmonares. No entanto, pela análise da tabela 21, devido ao fraco valor estatístico, foi impossível comprovar a existência de relação entre o Bloqueio de ramo direito e as resistências pulmonares.

Tendo em conta o resultado da Biópsia Endomiocárdica no dia do registo eletrocardiográfico (Rejeição aguda), constatamos que a prevalência de rejeição aguda foi de 17.9%.

Inicialmente, várias variáveis desde da bioquímica aos dados eletrocardiográficos revelaram diferenças significativas entre os grupos. Contudo, devido ao baixo valor estatístico da nossa amostra, por regressão logística simples, somente a variável “fibrose” se associou com este diagnóstico de rejeição aguda, revelando um aumento do risco de 19 vezes maior quando presente nos traçados eletrocardiográficos ( $p=0.02$ ).

Para alguns autores, o surgimento de fibrose miocárdica relaciona-se fortemente com a rejeição aguda. (Chassot, *et al*, 2012)

Está descrito que o processo de rejeição aguda pode ocorrer mal aconteça o restabelecimento do fluxo sanguíneo nas coronárias (e no próprio coração transplantado) (Rothman & Eisen, 2006).

Segundo Chassot, *et al*, 2012, a reação provocada pela atração dos linfócitos T aloreativos contra os antigénios do enxerto, associadas às lesões de isquemia/ reperfusão instituídas com o restabelecimento do fluxo dentro das artérias coronárias, vão provocar alterações celulares que culminam em zonas de fibrose. Com períodos alargados de isquemia, o ATP e o glicogénio esgotam-se devido à falta de oxigénio, levando à “edematização” das mitocôndrias. Há rutura das cristas mitocondriais e o Ciclo de Krebs é interrompido. Começa a haver catalisação dos compostos ricos em energia, tais como os ácidos gordos, aumentando a osmolalidade celular. O  $Ca^{2+}$  que até então tinham saído do retículo sarcoplasmático para intervir na sístole, deixa de ser “reabsorvido” por este devido à falta de ATP permanecendo no citoplasma da célula.

Com a reperfusão para além do aporte súbito de  $O_2$  que origina radicais livres (ROS: Espécies Reativas de Oxigénio) responsáveis pela acidose do meio intracelular, ocorre edema do miócito que, devido ao elevado gradiente osmótico, leva à entrada de  $H_2O$  e iões ( $Na^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) para o seu interior.

O Excesso de Radicais livres, associados à acumulação de  $Ca^{2+}$  e  $H^+$  no citoplasma do miócito condicionam alterações da organização e funcionalidade celular. Ocorre degradação das conexinas 43 e o estímulo elétrico deixa de ser conduzido eficazmente entre miócitos (Girão, Catarino, & Pereira, 2009). O tecido cardíaco transforma-se em tecido conjuntivo, levando ao surgimento de zonas de fibrose de condução lenta que se manifestam por PT no ECG de alta resolução.

Com o aumento de zonas de fibrose, a contractilidade cardíaca fica comprometida e a perda do enxerto torna-se inevitável.

No nosso estudo, tentamos verificar a relação entre os PT e o diagnóstico de rejeição aguda. A falta de significância estatística (possivelmente devido ao reduzido tamanho da amostra) impossibilitou-nos de comprovar eficazmente esta afirmação. Contudo foi possível observar uma diminuição tendencialmente significativa dos valores absolutos da RMS40 nos indivíduos com rejeição comparativamente aos indivíduos sem rejeição.

Tais resultados demonstram-se concordantes com os do estudo elaborado por Graceffo & O'Rourke em 1996 que, numa população de 20 indivíduos transplantados ao coração, também verificaram uma diminuição da RMS40 nos indivíduos com rejeição.

Verificou-se ainda um aumento do QRSf e da LAS40 bem como no número de entalhes do QRSf no grupo de doentes com rejeição, indo assim ao encontro do diagnóstico positivo de PT, segundo os critérios formulados pela ACC.

Pelo fraco valor estatístico da maioria das variáveis, volveu-se difícil elaborar um teste de diagnóstico para a rejeição aguda.

Com base na premissa de que as zonas de fibrose permanecem, mesmo com o aumento da imunossupressão, após um diagnóstico positivo de rejeição numa Biópsia Endomiocárdica, numa segunda fase da investigação procedeu-se à divisão da nossa amostra em dois grupos tendo em conta a presença ou ausência de rejeição em pelo menos uma Biópsia, desde a realização do transplante até ao dia do registo eletrocardiográfico (Rejeição pm1).

O objetivo principal da imunossupressão consiste em reduzir os riscos de desenvolver rejeição (Montagnat- Tatavin, 2012). Todavia, com o aparecimento de um foco de rejeição, o aumento da terapêutica imunossupressora só impede que este quadro se alastre, circunscrevendo a zona rejeitada. Deste modo, é previsível que uma vez desenvolvidas zonas de fibrose, estas permanecerão no miocárdio, condicionando por sua vez, atraso da condução.

No nosso estudo, a prevalência do diagnóstico da Rejeição pm1 foi de 64.2%.

Várias variáveis demonstraram diferenças significativas entre os grupos com e sem Rejeição pm1. No entanto, o verdadeiro valor estatístico de cada variável, só foi possível ser verificado por regressão logística simples.

Estranhamente, a variável fibrose demonstrou ausência de associação estatisticamente significativa com o diagnóstico de Rejeição pm1. Mas pela análise do teste de Fisher enriquecida com uma correlação de Spearman foi possível verificar a existência de uma relação moderada e positiva entre esse diagnóstico e os sinais de Fibrose ( $\rho=0.47$ ;  $p=0.01$ )

Por regressão logística verificamos que os critérios formulados pela ACC tinham uma capacidade moderada para discriminar os indivíduos transplantados com e sem Rejeição pm1. Foi ainda possível verificar que, tal como a diminuição da RMS40 ( $OR=7$ ;  $p=0.03$ ), o aumento da LAS40 aumentava o risco de Rejeição pm1 ( $OR=1.06$ ;  $p=0.03$ ).

Com base nesta informação, adicionado aos valores de normalidade para os PT formulados pelos diversos autores da literatura, foi possível através de uma curva ROC identificar diversos pontos de corte que possibilitaram a elaboração de um Score de Probabilidades para a ocorrência de Rejeição pm1. Com a atribuição da pontuação é possível confirmar o diagnóstico de Rejeição pm1 (score  $\geq 23$ ), suspeitar ou até considerá-lo pouco provável (score  $< 11$ ).

O número reduzido da nossa amostra, associada aos reduzidos processos de rejeição, revelou-se a maior limitação deste estudo, remetendo para o fraco valor estatístico de cada variável associada à rejeição aguda. Tornou-se assim impossível a realização de um Score de probabilidades recorrendo a esta condição.

Ao longo da investigação recorreu-se, necessariamente, ao diagnóstico da Rejeição pm1 para dar valor à proposta apresentada.

Pela análise da curva ROC ficou demonstrado que o score proposto discriminava fiavelmente os doentes com e sem Rejeição pm1, ou seja, que o Score de Probabilidades consegue prever pelo menos um processo de rejeição num *follow up* de oito anos.

Visto isto julgou-se ser útil, face às discutidas complicações inerentes aos diversos procedimentos ligados à Biópsia Endomiocárdica, a incorporação deste score na prática clínica diária para o estudo dos doentes transplantados ao coração.

Pela não disposição de meios técnicos para o fazer, a medição da onda P e do segmento PR não foi realizada com precisão recorrendo ao ECG de alta resolução. Havendo a possibilidade de o realizar inteiramente por ECG de alta resolução pensa-se que poderá constituir uma ferramenta eficiente no score de probabilidades diagnóstica da rejeição.

Deste modo, recomenda-se em estudos futuros, para além da incorporação destas medições precisas da onda P, o aumento do número de indivíduos submetidos a ECG de alta resolução e a incorporação de mais variáveis que revelem associação com a rejeição.



## Referências Bibliográficas

Abbas, A. K., & Lichtman, A. H. (2006). *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune system 2ed*. Philadelphia: saunders Company.

Albalkhi, R. (2003). *Prevalence des Potentiels tardifs ventriculaires et de la Dispersion de L'espace QT chez les Enfants après correction complete de Tetralogie de Fallot*. Genève: Editions Médecine et Hygiène.

Anderson, A. S. (19 de Junho de 2010). *Prognosis after cardiac transplantation*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Antunes, M. J. (2003). Doação de Órgãos e Transplantação Cardíaca. A Nossa Realidade. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 935-938.

Antunes, M. J. (2013). Assistência Ventricular e Transplante Cardíaco. Organização de Perspectivas Futuras em Portugal. *XXXIV Congresso Português de Cardiologia*. Vilamoura.

Antunes, M. J., Prieto, D., Sola, E., Antunes, P., Ferrão de Oliveira, J., Franco, F., et al. (2010). Transplantação Cardíaca. Cinco anos de actividade. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 732-748.

Asante- Korang, A., Fickey, M., Boucek, M. M., & Boucek, R. J. (2004). Diastolic performance assessed by tissue Doppler after pediatric heart transplantation. *The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 865-872.

Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação - ASST, A. p. (2011). *Dados Preliminares 2011*.

Barnard, C. N. (1967). The operation. A human cardiac transplat: an interim report of sucessful operation performed at Groote Schuur Hospital. *S Afr Med J*, 1271-1274.

Batista, M., Antunes, M., Prieto, D., Antunes, P. E., Sola, E., Costa, S., et al. (2013). Transplantação Cardíaca- Experiencia de oito anos num Centro Português. *XXXIV Congresso Português de Cardiologia* (pp. 34-35). Vilamoura: Revista Portuguesa de Cardiologia.

Behera, S. K., Trang, J., Feeley, B. T., Levi, D. S., Alejos, J. C., & Drant, S. (2008). The use of Doppler tissue imaging to predict cellular and antibody-mediated rejection in pediatric heart transplant recipients. *Pediatric transplantation*, 207-214.

Bejarano, E., Girão, H., Yuste, A., Patel, B., Marques, C., Spray, D. C., et al. (2012). Autophagy modulates dynamics of connexins at the plasma membrane in a ubiquitin-dependent manner. *Molecular biology of the cell*, 2156-2169.

Bennett, W. M. (18 de Agosto de 2010). *Cyclosporine and tacrolimus nephrotoxicity*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Berbari, E. (2002). High-Resolution electrocardiography. *Cardiac Electrophysiology from cell to bedside*, 793-797.

Bhatia, S. J., Kirshenbaum, J. M., Shemin, R. J., Cohn, L. H., Collins, J. J., Di Sesa, V. J., et al. (1987). Time course of resolution of pulmonary hypertension and right ventricular remodeling after orthotopic cardiac transplantation. *Circulation*, 819-826.

Book, B. K., Agarwal, A., Milgrom, A. B., Bearden, C. M., Sidner, R. A., Higgins, N. G., et al. (2005). New crossmatch technique eliminates interference by humanized and chimeric monoclonal antibodies. *Transplantation proceedings*, 640-642.

Borow, K. M., Neumann, A., Arensman, F. W., & Yacoub, M. H. (1985). Left ventricular contractility and contractile reserve in humans after cardiac transplantation. *Circulation*, 866-872.

Botta Jr, D. M., Mancini, M. C., Geibel, J., Gangahar, D. M., Karwande, S. V., Talavera, F., et al. (13 de Jan de 2014). *Heart Transplantation Technique*. Obtido de [Medscape:emedicine.medscape.com](http://Medscape:emedicine.medscape.com)

Bourge, R., Eisen, H., Hershberger, R., Radovancevic, B., Schreier, G., Kastner, P., et al. (1998). Noninvasive rejection monitoring of cardiac transplants using high resolution intramyocardial electrograms: initial US multicenter experience. *Pacing and clinical electrophysiology*, 2338-2344.

Brembilla-Perrot, B., Beurrier, B., Terrier De La Chaise, A., Djaballah, K., Jacquemin, L., & Danchin, N. (1996). Peut-on interpréter un électrocardiogramme haute amplification en cas de bloc de branch complet? *Archives des Maladies du coeur*, 299-304.

Brent, L. (1996). *A History of Transplantation Immunology*. USA: Academic Press.

Buckingham, T., Thessen, C., Stevens, L., Redd, R. M., & Kennedy, H. L. (1988). Effect of conduction defects on the Signal- Averaged electrocardiographic determination of late potentials. *American Journal of Cardiology*, 1265-1271.

Budeus, M., Hennersdorf, M., Perings, C., & Strauer, B. E. (2003). Detection of atrial late potentials with P wave signal averaged electrocardiogram among patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Zeitschrift für Kardiologie*, 362-369.

Cain, M. E., Anderson, J. L., Arnsdorf, M. F., Mason, J. W., Scheinman, M. M., & Waldo, A. L. (1996). Signal- Averaged Electrocardiography. *Journal of the American College of Cardiology*, 238-249.

Calé, R., Almeida, M., Gonçalves, P., Rebocho, M. J., Raposo, L., Teles, R., et al. (2012). Complicações da biópsia endomiocárdica após transplante cardíaco. Um mal menor. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 159-162.

Chassot, P.-G., Bettex, D. A., Boegli, Y., Delabays, A., Ferrarri, E., Marcucci, C., et al. (Septembre de 2012). Anesthésie pour la transplantation et les urgences cardiaques. *Précis d'anesthésie cardiaque*.

Ciliberto, G. R., Anjos, M. C., Gronda, E., Bonacina, E., Danzi, G., Colombo, P., et al. (1995). Significance of pericardial effusion after heart transplantation. *The American Journal of Cardiology*, 297-300.

Coutinho, J., & Jazbik, J. C. (Jul/Ago/Set de 2002). Técnica operatória em transplante cardíaco. *Revista Brasileira de Cardiologia*, 157-163.

Daliento, L., Caneve, F., Turrini, P., Buja, G., Nava, A., Milanesi, O., et al. (1995). Clinical Significance of high-frequency, low amplitude electrocardiographic signals and QT dispersion in patients operated on for Tetralogy of Fallot. *American Journal of Cardiology*, 408-441.

Dalva, K., & Beksac, M. (2007). HLA typing with sequence-specific oligonucleotide primed PCR (PCR-SSO) and use of the Luminex technology. *Methods in molecular medicine*, 61-69.

Dragun, D., & Rudolph, B. (2007). Novelities in diagnostics and therapy of antibody mediated rejection. *Oxford Journals-Nephrology Dialysis Transplantation*, viii50-viii53.

Eisen, H. J. (2008). Heart Transplantation: Graft Rejection Basics. *Johns Hopkins Advanced Studies en Medicine*, 174-181.

Eisen, H. J., & Jessup, M. (8 de Jun de 2010). *acute cardiac allograft rejection: Diagnosis*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Eisen, H. J., & Kusmirek, L. S. (11 de Abril de 2012). *Arrhythmias following cardiac transplantation*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Gatzoulis, K. A., Carlson, M. D., Biblo, L. A., Rizos, I., Gialafos, J., Toutouzas, P., et al. (1995). Time domain analysis of the signal-averaged electrocardiogram in patients with a conduction defect or a bundle branch block. *European Heart Journal*, 1912-1919.

Ginefra, P., Barbosa, E. C., Bomfim, A. d., Boghossian, S. H., Ribeiro, R. L., Barbosa, P. R., et al. (2004). Possíveis Aplicações do Eletrocardiograma de Alta Resolução em Cardiopatias Diversas: o futuro. *Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia*, 208-217.

Girão, H., Catarino, S., & Pereira, P. (2009). Eps15 interacts with ubiquitinated Cx43 and mediates its internalization. *Experimental cell research*, 3587-3597.

Graceffo, M. A., & O'Rourke, R. A. (1996). Cardiac transplant rejection is associated with a decrease in the high-frequency components of the high-resolution, signal-averaged electrocardiogram. *American Heart Journal*, 820-826.

Grell, E. d., Paula, R. S., Tobias, N. M., Moffa, P. J., Grupi, C. J., & Mansur, A. J. (2006). Potenciais tardios ao eletrocardiograma de alta resolução no domínio do tempo em portadores de insuficiência cardíaca de diferentes etiologias. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 241-247.

Guasp, F. T. (2001). The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. *Thoracic Cardiovasc Surg* (pp. 301-19). PubMed.

Haberl, R., Weber, M., Reichenspurner, H., Kemkes, B. M., Osterholzer, G., Anthuber, M., et al. (1987). Frequency analysis of the surface electrocardiogram for recognition of acute rejection after orthotopic cardiac transplantation in man. *Circulation*, 101-108.

Jackson, A. M., & Zachary, A. A. (2008). The problem of transplanting the sensitized patient: whose problem is it? *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 1396-1412.

Jacob, S., & Sellke, F. (21 de April de 2009). Is bicaval orthotopic heart transplantation superior to the biatrial techniques? *Oxford Journals- Interative Cardiovascular and Thoracic Surgery*, pp. 333-342.

Kadner, A., Chen, R. H., & Adams, D. H. (25 de January de 2000). Heterotopic heart transplantation: experimental and clinical experience. *Oxford Journals- European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, pp. 474-481.

Keren, A., Gillis, A. M., Freedman, R. A., Baldwin, J. C., Billingham, M. E., Stinson, E. B., et al. (1984). Heart transplant rejection monitored by signal-averaged electrocardiography in patients receiving cyclosporine. *Circulation*, 124-129.

Kobashigawa, J., Miller, L., Renlund, D., Mentzer, R., Alderman, E., Bourge, R., et al. (1998). A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Mycophenolate Mofetil Investigators. *Transplantation*, 507-515.

Kolopp-Sarda, M. N., Malcus, C., & Kohler, C. (2008). Immunologie de la transplantation: rejets et infections en transplantation d'organes solides. *Revue Francophone des Laboratoires*, 23-30.

Lima, R. J. (2002). A biópsia endomiocárdica no controle de rejeição em transplante cardíaco. *Revista Brasileira de Cardiologia*, 172-177.

Livio, M. (2003). *The Golden Ratio: The Story of Phi, the World's Most Astonishing Number*. New York: Broadway Books.

Majeed, I., Khan, M. A., Hussain, M. M., & Aslam, M. (2005). High Resolution Electrocardiography. *Pakistani Medical Journals*, 44-48.

Martins da silva, M. I., Vidigal Ferreira, M. J., & Morão Moreira, A. P. (2013). Utilização da cintigrafia com iodo-123-metaiodobenzilguanidina na estratificação do risco de morte súbita na insuficiência cardíaca. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 509-516.

Masuda, M., Inoue, K., Iwakura, K., Okamura, A., Toyoshima, Y., Doi, A., et al. (2013). Impact of pulmonary vein isolation on atrial late potentials: association with the recurrence of atrial fibrillation. *European pacing, arrhythmias and cardiac electrophysiology*, 501-507.

Middleton, D. (2002). Current and emerging technology fo HLA typing. *International journal of hematology*, 150-151.

Moffa, P. J. (1993). Eletrocardiografia de alta resolução- revisão da utilidade clínica do eletrocardiograma de alta resolução e dos potenciais tardios em grupos específicos de pacientes. *Revista Brasileira de Marcapasso e Arritmia*, 102-112.

Momose, M., Kobayashi, H., Ikegami, H., Matsuda, N., Hachida, M., Kasanuki, H., et al. (2000). Regional cardiac sympathetic reinnervation in transplanted human hearts detected by 123I-MIBG SPECT imaging. *Annals of Nuclear Medicine*, 333-337.

Montagnat-Tatavin, M. C. (2012). *Prise en charge des patients greffes cardiaques: analyse de besoins aupres des patients et des professionnels de sante*. Grenoble: Universite Joseph Fourier.

Moraes, A. P., Moffa, P. J., Sosa, E. A., Belloti, G., Pastore, C. A., Lima, E. V., et al. (1994). The signal average ECG in patients with chronic Chagas heart disease. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, 177-182.

Morocutti, G., Di Chiara, A., Proclemer, A., Fontanelli, A., Bernardi, G., Morocutti, A., et al. (1995). Signal- averaged electrocardiography and Doppler echocardiographic study in predicting acute rejection in heart transplantation. *The Journal of heart and lung transplantation*, 1065-1072.

Morris, A. A., Cole, R. T., Veledar, E., Bellam, N., Laskar, S. R., Smith, A. L., et al. (2013). Influence of race/ethnic differences in pre-transplantation panel reactive antibody on outcomes in heart transplant recipients. *Journal of the American College of Cardiology*, 2308-2315.

Mueller, X. M. (2004). Drug immunosuppression therapy for adult heart transplantation. Part 2: clinical applications and results. *The Annals of thoracic surgery*, 363-371.

Nalos, P. C., Pappas, J. M., Nyitray, W., Ishimori, T., & DonMichael, T. A. (1991). Prospective community evaluation of the signal-averaged electrocardiogram in predicting malignant ventricular arrhythmias: beneficial outcome with electrophysiology guided therapy. *Clinical Cardiology*, 963-70.

Narayanawamy, S. (2002). High Resolution Eletrocardiography. *Indian Pacing and Electrophysiology Journal*, 50-56.

Nellessen, E., & Piérard, L. A. (2004). Réinnervation Myocardiaque après transplantation Cardiaque: État de la question. *Rev Med Liege*, 435-438.

Pope, S. E., Stinson, E. B., Daughters, G., Schroeder, J. S., Ingels, N. B., & Alderman, E. L. (1980). Exercise response of the denervated heart in long-term cardiac transplant recipients. *The American Journal of Cardiology*, 213-218.

Reitz, B. A., Dong Jr., E., & Stinson, E. B. (1971). The Bainbridge Reflex in Canine Cardiac Autotransplants. *Circulation*, 136-140.

Resende, M. V., Vieira, M. L., Bacal, F., Andrade, J. L., Stolf, N. A., & Bocchi, E. A. (2011). Ecocardiografia por Doppler Tecidual no Diagnóstico de Rejeição após Transplante Cardíaco. *Sociedade Brasileira De Cardiologia*.

Ricci, D. R., Orlick, A. E., Alderman, E. L., Ingels, N. B., Daughters, G. T., Kusnick, C. A., et al. (1979). Role of tachycardia as an inotropic stimulus in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 695-703.

Rothman, S. A., & Eisen, H. J. (16 de Maio de 2006). *Arrhythmias following cardiac transplantation*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Santos, L. F., Pereira, T., Rodrigues, B., Correia, E., Moreira, D., Nunes, L., et al. (2012). Critérios de diagnóstico da síndrome de Brugada. Podemos melhorar? *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 355-362.

Schroeder, J. S., Popp, R. L., Stinson, E. B., Dong, E. J., Shumway, N. E., & Harrison, D. C. (1969). Acute Rejection Following Cardiac Transplantation: Phonocardiographic and Ultrasound Observations. *Circulation*, 155-164.

Shimmura, H., Tanabe, K., Ishikawa, N., Tokumoto, T., Fuchinoue, S., Takahashi, K., et al. (2000). Removal of anti-A/B antibodies with plasmapheresis in ABO-incompatible kidney transplantation. *Therapeutic apheresis: official journal of the International Society for Apheresis and the Japanese Society for Apheresis*, 395-398.

Stecker, E. C., Strellich, K. R., Chugh, S. S., Crispell, K., & Mcanulty, J. H. (2005). Arrhythmias After Orthotopic Heart Transplantation. *Journal of Cardiac Failure*, 464-472.

Stewart, S., Winters, G. L., Fishbein, M. C., Tazelaar, H. D., Kobashigawa, J., Abrams, J., et al. (2005). Revision of the 1990 Working Formulation for the Standardization of Nomenclature in the Diagnosis of Heart Rejection. *ISHLT Consensus Report*, 1710-1720.

Taylor, D. O., Edwards, L. B., Aurora, P., Christie, J. D., Dobbels, F., Kirk, R., et al. (2008). Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-fifth Official Adult Heart Transplant Report. *J Heart Lung Transplant*, 943-956.

Taylor, D., Meiser, B., & Webber, S. (8 de Nov de 2010). The international society of heart and lung transplantation guidelines for the care of heart transplant recipients. *Task Force 2: immunosuppression and Rejection*, pp. 1-41.

Valentino, V. A., Ventura, H. O., Abi-Samra, F. M., Van Meter, C. H., & Price, H. L. (1992). The signal-averaged electrocardiogram in cardiac transplantation. A noninvasive marker of acute allograft rejection. *Transplantation*, 124-127.

Vella, J. (20 de Agosto de 2010). *Transplantation immunobiology*. Obtido de [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

Yerly, P., Hullin, R., Rotman, S., Segesser, L. v., Pascual, M., Mach, F., et al. (2009). Suivi du patient après transplantation cardiaque: monitoring et adaptation de l'immunosuppression. *Revue Medicale Suisse*, 1214-1220.



**ANEXOS**

---

<b>Análise da onda P no domínio do tempo (20Hz)</b>										
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC95%	<i>p</i>
Budeus et al	20%	82,61%	20%	82,61%	71,43%	1,15	0,97	0,03	(-0,34-0,40)	0,90
Masuda et al	0%	100%	-	82,14%	82,14%	-	1	0	(0,0-0,0)	-
Ginefra et al	20%	95,65%	50%	84,62%	82,14%	4,6	0,84	0,21	(-0,12-0,53)	0,22
<b>Análise do complexo QRS no domínio do tempo (40Hz)</b>										
ACC	80%	34,78%	21,05%	88,89%	42,86%	1,23	0,58	0,07	(-0,15-0,29)	0,97
Buckingham et al	60%	52,17%	21,43%	85,71%	53,57%	1,255	0,77	0,07	(-0,21-0,36)	0,62
Brembilla et al	0%	100%	-	82,14%	82,14%	-	1	0	(0,0-0,0)	-
Gatzoulis et al	0%	78,26%	0%	78,26%	64,29%	0,0	1,29	0	(-0,59-0,15)	0,39
Nalos et al	40%	86,96%	40%	86,96%	78,57%	3,067	0,69	0,27	(-0,10-0,64)	0,15
Moraes et al	80%	56,52%	28,57%	92,86%	60,71%	1,84	0,35	0,24	(-0,07-0,50)	0,50

Quadro 4: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e o diagnóstico de Potenciais Tardios segundo os diversos autores

Análise da onda P no domínio do tempo (20Hz)											
		Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC 95%	p
<b>Budeus et al</b>	<b>Pf</b>	100%	34,78%	25%	100%	46,43%	1,53	0	0,16	(-0,04-0,36)	0,12
	<b>RMS20</b>	20%	78,26%	16,67%	81,82%	67,86%	0,92	1,02	0	(-0,38-0,35)	0,93
<b>Masuda et al</b>	<b>Pf</b>	20%	65,22%	11,11%	78,95%	57,14%	0,58	1,23	0	(-0,46-0,23)	0,52
	<b>RMS20</b>	0%	95,65%	0%	81,48%	78,57%	0	1,05	0	(-0,32-0,20)	0,64
<b>Ginefra et al</b>	<b>Pf</b>	20%	86,96%	25%	83,33%	75%	1,53	0,92	0,08	(-0,29-0,44)	0,69
	<b>RMS20</b>	20%	65,22%	11,11%	78,95%	57,14%	0,58	1,23	0	(-0,46-0,23)	0,52

Quadro 5: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios auriculares, segundo os diversos autores

Análise do complexo QRS no domínio do tempo (20Hz)											
		Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC 95%	p
ACC	QRSf	80%	47,83%	25%	91,67%	53,57%	1,53	0,42	0,15	(-0,11-0,41)	0,25
	RMS40	80%	34,78%	21,05%	88,89%	42,86%	1,23	0,58	0,07	(-0,15-0,29)	0,52
	LAS40	80%	34,78%	21,05%	88,89%	42,86%	1,23	0,58	0,07	(-0,15-0,29)	0,52
Buckingham <i>et al</i>	QRSf	20%	78,26%	16,86%	81,82%	67,86%	0,92	1,02	0	(-0,38-0,35)	0,93
	RMS40	80%	47,83%	25%	91,67%	53,57%	1,53	0,42	0,15	(-0,11-0,41)	0,25
	LAS40	60%	52,17%	21,43%	85,71%	53,57%	1,26	0,77	0,07	(-0,21-0,36)	0,62
Brembilla <i>et al</i>	QRSf	0%	100%	-	82,14%	82,14%	-	1	0,0	(0,0-0,0)	-
	RMS40	80%	34,78%	21,05%	88,89%	42,86%	1,23	0,58	0,07	(-0,15-0,29)	0,52
	LAS40	80%	30,43%	20%	87,5%	39,29%	1,15	0,66	0,05	(-0,15-0,25)	0,64
Gatzoulis <i>et al</i>	QRSf	20%	78,26%	16,67%	81,82%	67,86%	0,92	1,02	0	(-0,38-0,35)	0,93
	RMS40	80%	43,48%	23,48%	90,91%	50%	1,42	0,46	0,12	(-0,12-0,36)	0,33
	LAS40	60%	60,87%	25%	87,5%	60,71%	1,53	0,66	0,14	(-0,17-0,44)	0,39
Nalos <i>et al</i>	QRSf	80%	56,52%	28,57%	92,86%	60,71%	1,84	0,35	0,21	(-0,07-0,50)	0,14
	RMS40	80%	52,17%	26,67%	92,31%	57,14%	1,67	0,38	0,18	(-0,09-0,45)	0,19
	LAS40	80%	34,78%	21,05%	88,89%	42,86%	1,23	0,56	0,07	(-0,15-0,29)	0,52
Moraes <i>et al</i>	RMS40	80%	56,52%	28,57%	92,86%	60,71%	1,84	0,35	0,21	(-0,07-0,50)	0,149

Quadro 6: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios ventriculares segundo os diversos autores

<b>Análise da onda P no domínio do tempo (20Hz)</b>										
	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC95%	<i>p</i>
<b>Budeus <i>et al</i></b>	22.22%	90%	80%	39.13%	46.43%	2.22	0.86	0.10	(-0.13-0.32)	0.42
<b>Masuda <i>et al</i></b>	0%	100%	-	35.71%	35.71%	-	1	0	(0-0)	-
<b>Ginefra <i>et al</i></b>	5.6%	90%	50%	34.62%	35.71%	0.56	1.05	0	(-0.18-0.11)	0.66
<b>Análise do complexo QRS no domínio do tempo (40Hz)</b>										
<b>ACC</b>	83.33%	60%	78.95%	66.67%	75%	2.08	0.28	0.44	(0.07-0.81)	0.02
<b>Buckingham <i>et al</i></b>	61.11%	70%	78.57%	50%	64.29%	2.04	0.56	0.29	(-0.07-0.64)	0.12
<b>Brembilla <i>et al</i></b>	0%	100%	-	35.71%	35.71%	-	1	0	(0-0)	-
<b>Gatzoulis <i>et al</i></b>	27.78%	100%	100%	43.48%	53.57%	-	0.72	0.22	(-0.01-0.45)	0.07
<b>Nalos <i>et al</i></b>	22.22%	60%	80%	39.13%	46.43%	2.22	0.86	0.10	(-0.13-0.32)	0.42
<b>Moraes <i>et al</i></b>	61.11%	70%	78.57%	50%	64.29%	2.04	0.56	0.29	(-0.07-0.64)	0.12

Quadro 7: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição baseado na totalidade das Biópsias e o diagnóstico de Potenciais

Tardios segundo os diversos autores

Análise da onda P no domínio do tempo (20Hz)											
		Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC 95%	<i>p</i>
<b>Budeus et al</b>	<b>Pf</b>	72.22%	30%	65%	37.5%	57.14%	1.03	0.93	0.02	(-0.34-0.39)	0.90
	<b>RMS20</b>	27.78%	90%	83.33%	40.91%	50%	2.78	0.80	0.14	(-0.11-0.39)	0.27
<b>Masuda et al</b>	<b>Pf</b>	22.22%	50%	44.44%	26.32%	32.14%	0.44	1.56	0	(-0.53-0.07)	0.13
	<b>RMS20</b>	5.56%	100%	100%	37.04%	39.29%	-	0.94	0.04	(-0.06-0.14)	0.45
<b>Ginefra et al</b>	<b>Pf</b>	16.67%	90%	75%	37.5%	42.86%	1.67	0.93	0.05	(-0.16-0.26)	0.63
	<b>RMS20</b>	33.33%	70%	66.67%	36.84%	46.43%	1.11	0.95	0.03	(-0.27-0.33)	0.86

Quadro 8: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição baseado na totalidade das Biópsias realizadas, e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios auriculares, segundo os diversos autores.

Análise do complexo QRS no domínio do tempo (20Hz)											
		Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão do diagnóstico	LH+	LH-	Kappa de Cohen	IC 95%	p
<b>ACC</b>	<b>QRSf</b>	66.67%	60%	75%	50%	64.29%	1.67	0.56	0.26	(-0.11-0.62)	0.17
	<b>RMS40</b>	83.33%	60%	78.95%	66.67%	75%	2.08	0.28	0.44	(0.07-0.81)	0.02
	<b>LAS40</b>	83.33%	60%	78.95%	66.67%	75%	2.08	0.28	0.44	(0.07-0.81)	0.02
<b>Buckingham et al</b>	<b>QRSf</b>	27.78%	90%	83.33%	40.91%	50%	2.79	0.80	0.14	(-0.11-0.39)	0.27
	<b>RMS40</b>	66.67%	60%	75%	50%	64.29%	1.67	0.56	0.26	(-0.11-0.62)	0.17
	<b>LAS40</b>	66.67%	80%	85.71%	57.14%	71.43%	3.33	0.42	0.43	(0.07-0.78)	0.02
<b>Brembilla et al</b>	<b>QRSf</b>	0%	100%	-	35.71%	35.71%	-	1	0.0	(0-0)	-
	<b>RMS40</b>	83.33%	60%	78.95%	66.67%	75%	2.08	0.28	0.44	(0.07-0.81)	0.02
	<b>LAS40</b>	83.33%	50%	75%	62.5%	71.43%	1.67	0.33	0.35	(-0.02-0.70)	0.06
<b>Gatzoulis et al</b>	<b>QRSf</b>	27.78%	90%	83.33%	40.91%	50%	2.78	0.80	0.14	(-0.11-0.39)	0.27
	<b>RMS40</b>	72.22%	60%	76.47%	54.55%	67.86%	1.81	0.46	0.32	(-0.05-0.68)	0.09
	<b>LAS40</b>	61.11%	90%	91.67%	56.25%	71.43%	6.11	0.43	0.45	(0.11-0.79)	0.01
<b>Nalos et al</b>	<b>QRSf</b>	61.11%	70%	78.57%	50%	64.29%	2.04	0.56	0.29	(-0.07-0.64)	0.12
	<b>RMS40</b>	66.67%	70%	80%	53.85%	67.86%	2.22	0.48	0.34	(-0.02-0.71)	0.06
	<b>LAS40</b>	83.33%	60%	78.95%	66.67%	75%	2.08	0.28	0.44	(0.07-0.81)	0.02
<b>Moraes et al</b>	<b>RMS40</b>	61.11%	70%	78.57%	50%	64.29%	2.04	0.56	0.29	(-0.07-0.64)	0.12

Quadro 9: Valor estatístico e análise da concordância entre o diagnóstico de rejeição, atendendo à totalidade das Biópsias realizadas, e cada critério isolado de definição dos Potenciais Tardios ventriculares segundo os diversos autores.