

Cristina de Sylos

Avaliação do peptídeo natriurético tipo B
(BNP) após transplante cardíaco pediátrico

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

Área de concentração: Cardiologia
Orientadora: Prof. Dra. Estela Azeka

São Paulo

2008

Cristina de Sylos

Avaliação do peptídeo natriurético tipo B
(BNP) após transplante cardíaco pediátrico

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

Área de concentração: Cardiologia
Orientadora: Prof. Dra. Estela Azeka

São Paulo

2008

DEDICATÓRIA

À **Maria de Castro Belluti**, minha avó, (*in memoriam*) pelos exemplos em vida de fé, humildade, amor e dedicação, estimulando precocemente meu interesse pela leitura e pela ciência.

Aos meus filhos **Clarisse e Vinicius**, razão do meu viver, que iluminam os meus dias com os seus sorrisos e me fazem acreditar que vale a pena lutar por um mundo melhor.

Aos **pacientes transplantados e seus familiares**, pelo carinho, confiança e respeito: - vocês me ensinaram o verdadeiro valor da palavra vida; e, aos **parentes dos doadores**, exemplos de amor e desprendimento, por tornarem possível a continuidade destas nobres vidas.

AGRADECIMENTOS

À **Prof Dra Estela Azeka**, minha orientadora, pelo exemplo de dedicação, profissionalismo e amor ao próximo, e principalmente pela paciência na difícil arte de ensinar.

Aos meus pais **João e Nilza** e ao meu irmão **Marcos** pelo amor e apoio constante em todas as fases da minha vida. Sem vocês nada seria possível.

Ao meu marido **Márcio Pampuri**, por seu amor e compreensão.

Muitas pessoas foram direta ou indiretamente importantes na elaboração desta tese, impossível citar todos, difícil selecionar os principais, afinal todos foram muito importantes, por isso muito obrigada à todos os amigos e pessoas que estiveram presentes nesta fase tão importante para o meu crescimento pessoal e científico.

À equipe de hemodinâmica, especialmente à enfermeira **Vilmeire, Dr Kajita, Dr Rogério, Dra Grace**, pela atenção e colaboração na coleta dos exames.

Aos médicos, **Dra Vera e Dr Luis Benvenuto** e aos funcionários do serviço de patologia (**Wagner e Luis**), pela análise das biópsias e divulgação do material. Minha admiração e respeito.

À equipe técnica do laboratório do Incor, especialmente à **Marli**, responsável pelas dosagens de BNP, pelo profissionalismo e atenção.

Aos médicos do setor de ecocardiografia, especialmente ao **Dr Vitor, Dra Gláucia e Dra Cláudia** pela realização dos exames e pela disponibilidade na avaliação dos pacientes transplantados.

Ao grupo de médicos, enfermeiros, auxiliares, secretárias e equipe multidisciplinar do **Instituto do Coração, Instituto da Criança e Hospital da Clínicas** por auxiliarem na minha formação.

Ao **Dr Antonio Augusto Lopes** pelo apoio e incentivo constante para o desenvolvimento científico do serviço.

Dr Miguel Barbero Marcial, Dra Carla Tanamati, Dr Marcelo Jatene, Dr Arlindo Riso, Jaqueline e à equipe de transplante pediátrico.

Ao **Dr Cláudio Leone** pela contribuição na análise estatística e pelas valiosas opiniões.

Ao **Dr Ulisses Dória**, um verdadeiro mestre, que me auxiliou muito nos momentos finais desta tese.

À **Vera Wengrill** pela atenção e revisão final da tese.

À **Dra Evelinda** pela revisão do *abstract*.

À **Klébia Castello Branco**, minha amiga e colaboradora na jornada da pós-graduação.

Aos Doutores **Pereira Barreto, Roney, Múcio e Marcelo Jatene**, pelo auxílio nas fases de pré-qualificação e qualificação. Sou eternamente grata.

À **Terezinha**, pelo carinho dedicado aos meus filhos durante este período.

E, aos meus **familiares e amigos**, pelo carinho e incentivo constante, mesmo quando distantes.

“O homem é corda estendida entre o animal e o Super-homem: uma corda sobre o abismo; perigosa travessia, perigoso caminhar; perigoso olhar para trás; perigoso tremer e parar. ...Eu admiro aqueles que sabem viver ultrapassando seus limites, porque são estes os que atravessam de um para o outro lado.”

Friedrich Nietche, Assim falou Zaratustra

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas
 Lista de tabelas
 Lista de figuras
 Resumo
 Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Rejeição cardíaca.....	4
1.2. Métodos diagnósticos de rejeição.....	8
1.3. Marcadores biológicos.....	11
1.3.1. Peptídeos natriuréticos.....	12
1.3.2. Peptídeo natriurético cerebral.....	13
1.3.3. Valores de normalidade do BNP.....	14
1.3.4. Aplicações clínicas do BNP.....	14
1.3.5. BNP e rejeição cardíaca.....	15
1.3.6. BNP e doença coronariana.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
3. MÉTODOS.....	21
3.1. Casuística.....	22
3.2. Métodos.....	29
3.2.1. Critérios de inclusão e de exclusão.....	29
3.2.2. Avaliação dos elementos clínicos.....	29
3.2.3. Avaliação dos elementos de pós-operatório dos receptores no momento da biópsia.....	30
3.2.4. Exames subsidiários.....	30
3.2.5. Imunossupressão.....	30
3.2.6. Métodos diagnósticos da rejeição aguda.....	31
3.2.7. Análise do peptídeo natriurético tipo B.....	36
3.2.8. Análise estatística.....	37

4. RESULTADOS:	39
4.1. Dados clínicos e demográficos.....	40
4.2. Exames subsidiários.....	44
4.3. Resultado da biópsias endomiocárdicas do ventrículo direito.....	45
4.4. Ecocardiograma.....	47
4.5. Cateterismo cardíaco.....	49
4.6. Doença coronariana.....	50
4.7. Dosagens sanguíneas de BNP.....	51
5. DISCUSSÃO:	61
5.1. Rejeição cardíaca.....	64
5.2. Métodos para o diagnóstico de rejeição cardíaca.....	66
5.2.1. Cateterismo cardíaco.....	66
5.2.2. Ecocardiograma.....	66
5.3. BNP após transplante cardíaco.....	68
5.3.1. Níveis de BNP e biópsia endomiocárdica.....	69
5.3.2. BNP e doença coronariana.....	70
5.3.3. BNP e outras variáveis.....	71
5.4. Limitações do estudo.....	73
5.5. Implicações clínicas.....	73
6. CONCLUSÕES:	74
7. REFERÊNCIAS:	76

Apêndices

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Átrio Direito
ANP	Peptídeo Natriurético Atrial
BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral ou tipo B
CNP	Peptídeo Natriurético tipo C
DAC	Doença Arterial Coronária
DC	Débito Cardíaco
DDVE	Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo
DSVE	Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IC 95%	Intervalo de Confiança de 95%
InCor	Instituto do Coração
PAD	Pressão de Átrio Direito
PAP(S)	Pressão Arterial Pulmonar (Sistólica)
PAP(D)	Pressão Arterial Pulmonar (Diastólica)
PA(S)	Pressão Arterial (Sistólica)
PCP	Pressão Capilar Pulmonar
RVP	Resistência Vascular Pulmonar
RVP	Resistência Vascular Sistêmica
ROC	<i>Receiver Operating Characteristics</i>
VE	Ventrículo Esquerdo
VD	Ventrículo Direito

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da rejeição cardíaca segundo critérios da Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pulmonar (ISHLT) – 1990.....	5
Tabela 2 - Graduação da biópsia endomiocárdica: rejeição celular aguda – 2004.....	6
Tabela 3 - Classificação da biópsia endomiocárdica em relação à rejeição humoral	7
Tabela 4 – Grupo sanguíneo dos 33 pacientes estudados.....	28
Tabela 5 - Painel imunológico dos 33 pacientes em pós-operatório de transplante cardíaco pediátrico que se submeteram ao estudo.....	28
Tabela 6 – Dados clínicos das 33 crianças, comparando-se o grupo com rejeição e ausência de rejeição.....	41
Tabela 7 - Exames laboratoriais realizados antes da biópsia endomiocárdica nas 50 amostras.....	44
Tabela 8 - Distribuição do número de biópsias por pacientes.....	45
Tabela 9 – Especificação das rejeições encontradas nas 50 biópsias, segundo a classificação da ISHLT de 1990.....	46
Tabela 10 – Avaliação dos parâmetros ecocardiográficos utilizados em pacientes após transplante cardíaco para o diagnóstico de rejeição aguda.....	49
Tabela 11 - Avaliação hemodinâmica de pacientes após transplante cardíaco pediátrico, nos grupos rejeição e ausência de rejeição.....	50
Tabela 12 - Níveis sanguíneos de BNP na detecção de rejeição aguda.....	56
Tabela 13 - Níveis sanguíneos de BNP na detecção de doença coronariana após transplante cardíaco pediátrico.....	58
Tabela 14 – Avaliação de elementos clínicos e laboratoriais relacionados à elevação dos níveis de BNP em pacientes após transplante cardíaco, dividido de acordo com o percentil 50.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos 33 pacientes estudados segundo a cor.....	25
Figura 2 - Distribuição dos 33 pacientes estudados em relação ao gênero.....	26
Figura 3 - Tipo de cardiopatia dos 33 pacientes.....	27
Figura 4 – Quadro clínico dos 33 receptores no momento da biópsia endomiocárdica.....	42
Figura 5 – Medicação imunossupressora de manutenção dos 33 pacientes no momento da biópsia endomiocárdica.....	44
Figura 6 – Biópsia endomiocárdica caracterizando rejeição aguda celular grau 3 A.....	46
Figura 7 – Biópsia endomiocárdica caracterizando rejeição aguda humoral....	47
Figura 8 – Estratificação dos níveis sangüíneos de BNP no momento da biópsia endomiocárdica.....	51
Figura 9 – Avaliação dos níveis séricos de BNP para detecção de rejeição cardíaca em 33 pacientes após transplante cardíaco pediátrico....	52
Figura 10 – Avaliação dos níveis séricos de BNP para detecção de rejeição aguda celular após transplante cardíaco em pacientes sem doença arterial coronariana.....	53
Figura 11 - Resultado das biópsias endomiocárdicas do ventrículo direito, comparados aos níveis de BNP.....	54
Figura 12 – Avaliação da influência do tempo de transplante cardíaco nos níveis séricos de BNP.....	55
Figura 13 – Valor de corte de BNP com maior acurácia para o diagnóstico de rejeição cardíaca determinado através de curva ROC nas 50 amostras.....	56
Figura 14 – Valor de corte de BNP para o diagnóstico de doença arterial coronariana através de curva ROC nas 50 amostras.....	58
Figura 15: Avaliação da influência da resistência vascular pulmonar nos níveis séricos de BNP (pg/ml) após transplante cardíaco pediátrico.....	61

RESUMO

Sylos C. Avaliação do peptídeo natriurético tipo B após transplante cardíaco pediátrico [tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2008.103p

INTRODUÇÃO: A rejeição constitui-se em uma das principais causas de mortalidade após o transplante cardíaco pediátrico. O peptídeo natriurético tipo B (BNP), tem sido estudado como método no diagnóstico de rejeição aguda principalmente em pacientes adultos submetidos ao transplante cardíaco. **OBJETIVOS:** Avaliar o peptídeo natriurético tipo B no diagnóstico de rejeição aguda em crianças submetidas ao transplante cardíaco ortotópico, avaliar o papel do BNP como método adicional não invasivo na elucidação diagnóstica da doença coronariana após transplante e comparar parâmetros clínicos, ecocardiográficos e hemodinâmicos em relação à biópsia endomiocárdica no diagnóstico de rejeição cardíaca aguda. **MÉTODOS:** Foram coletadas 50 amostras de BNP de 33 crianças em pós-operatório de transplante cardíaco e analisados dados de idade, sexo, cor, grupo sanguíneo, painel imunológico, tempo de evolução após o transplante, sintomatologia, imunossupressão utilizada, número de rejeições, dados ecocardiográficos e parâmetros hemodinâmicos. Os grupos foram divididos em pacientes com rejeição e pacientes sem rejeição. **RESULTADOS:** Foram analisadas 50 amostras consecutivas de 33 crianças, durante período de 17 meses. A idade mediana foi de 10,1 anos, com predomínio do sexo feminino (54%) e da cor branca (85%). No momento da dosagem de BNP o tempo médio pós-transplante foi 4,3 anos. A biópsia endomiocárdica diagnosticou nove rejeições em oito pacientes (27%), sendo três com grau 3 A, cinco com grau 2 e um com rejeição humoral. No momento da biópsia, a maioria dos pacientes encontrava-se assintomática. O nível sérico de BNP teve mediana de 77,2 pg/ml, sendo 144,2 pg/ml no grupo com rejeição e 62,5 pg/ml no grupo sem rejeição, com $p = 0,02$. Análise de curva ROC mostra que níveis sanguíneos de BNP maiores que 38 pg/ml apresentam sensibilidade de 100% e especificidade de 56% na detecção de rejeição cardíaca. Os níveis de BNP foram maiores que 100 pg/ml nos pacientes com doença coronariana, com mediana de 167,5 pg/ml, em relação à

mediana de 40,5 pg/ml dos pacientes que não apresentaram doença coronariana. A curva ROC mostra ponto de corte de 90 pg/ml como ideal para diagnóstico de doença coronariana, com $p = 0,01$. Os parâmetros hemodinâmicos não foram diferentes entre os grupos com rejeição e sem rejeição. A sensibilidade do ecocardiograma para detecção de rejeição foi de 44% e especificidade de 90%, com $p = 0,02$. CONCLUSÕES: Pacientes podem apresentar-se assintomáticos durante episódio de rejeição aguda. O nível sérico de BNP apresentou diferença estatisticamente significativa no grupo com rejeição, podendo ser método adicional no diagnóstico de rejeição cardíaca. A doença coronariana esteve associada com níveis elevados de BNP, independente da presença de rejeição aguda. O ecocardiograma mostrou baixa sensibilidade para o diagnóstico de rejeição cardíaca, mas alta especificidade. A avaliação dos parâmetros hemodinâmicos não apresentou neste estudo correlação com os resultados de biópsia.

Descritores: rejeição de enxerto; transplante de coração; peptídeo natriurético encefálico; biópsia ; criança.

ABSTRACT:

Sylos C. Ventricular natriuretic B-type peptide (BNP) after pediatric heart transplantation [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2008.103p

INTRODUCTION: The rejection is one of the main causes of mortality after pediatric heart transplant. B natriuretic peptide has been used as a diagnostic method for rejection mainly in adult patients after heart transplantation. OBJECTIVE: To correlate BNP levels collected at the moment of endomyocardial biopsy with rejection, to evaluate BNP as an additional method for coronary artery disease and to compare clinical, echocardiograph assessment and hemodynamic parameters with endomyocardial biopsy findings. METHODS: There were 50 BNP blood samples from 33 children submitted to orthotopic cardiac transplantation. Analyzed parameters included: age, gender, race, blood type, reactive panel, functional class, immunosuppressive regimens, number of rejection episodes, echocardiography findings and hemodynamic parameters. The patients were divided in two groups: with rejection and without rejection. RESULTS: Thirty three children with a median age of 10.3 years (54% female) were studied at median time of 4.2 years after heart transplantation. Endomyocardial biopsy diagnosed nine rejection episodes (27%): three were grade 3A; five were grade 2 and one was humoral rejection. At the moment of biopsy most patients were asymptomatic. Average BNP level was 77.2 pg/ml (144.2 pg/ml in the patients with rejection and 65.8 pg/ml in the group without rejection, $p=0.02$). BNP level was increased in humoral rejection and in patients with coronary artery disease. ROC curve demonstrates BNP levels over 38 pg/ml to present 100% sensibility and 56% specificity to detect acute rejection. The levels of BNP were higher than 100 pg/ml in most of the patients with coronary artery disease (median of 167.5 pg/ml compared with a 40.5 pg/ml in patients without coronary artery disease). The curve ROC shows a critical cut off value for the diagnosis of coronary artery disease at the level of 90 pg/ml in, with $p = 0.01$. The hemodynamic parameters did not show significant differences between the patients with rejection and the group without rejection. The echocardiogram presented 44% sensibility and a

90% specificity to detect the rejection episode ($p = 0.02$). **CONCLUSIONS:** Children could be asymptomatic at allograft rejection episodes. BNP level was significantly elevated in children with the allograft rejection episode and may add a valuable information for the rejection assessment. Also, the higher BNP levels associated with coronary artery disease may contribute for its surveillance. Although the echocardiography presented low sensibility to screen for acute rejection episodes, its high specificity enhances its role to structural and functional alterations. The hemodynamic parameters did not contribute for the diagnosis nor presented correlation with the biopsy findings.

Descriptors: graft rejection; heart transplantation; brain natriuretic peptide, biopsy, child

INTRODUÇÃO

1. Introdução:

O transplante cardíaco tem sido procedimento de escolha em crianças portadoras de cardiopatias congênitas complexas e cardiomiopatias refratárias à terapêutica convencional, apesar dos avanços no arsenal terapêutico da insuficiência cardíaca congestiva, como o uso de beta-bloqueadores e terapia gênica ¹⁻⁵.

O primeiro transplante cardíaco em humanos foi realizado por Barnard et al em 1967 ⁶, e no mesmo ano, ocorreu o primeiro transplante cardíaco em recém-nascido, realizado em Nova York por Kantrowitz et al.⁷.

A alta taxa de mortalidade dos pacientes submetidos ao transplante nos primeiros anos, em decorrência da ausência de drogas imunossupressoras eficazes na profilaxia da rejeição, e a dificuldade no seu diagnóstico, levou vários centros a interromperem seus programas de transplante, sendo que,

menos de cinco transplantes por ano, foram realizados antes de 1980, nos Estados Unidos ⁸.

A partir da década de 80, com a introdução da ciclosporina como droga imunossupressora ⁹, e com conseqüente melhora na sobrevida, vários grupos foram motivados a reiniciarem seus programas.

No Brasil, o primeiro transplante de coração foi realizado em 1968 por Zerbini et al.¹⁰ Em 1992, foi realizado o primeiro transplante cardíaco em recém-nascido por Barbero-Marcial et al.¹¹ no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo ¹². No nosso meio, Azeka et al.¹³, relatam sobrevida imediata de 86% e tardia de 77%.

O décimo registro da Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco Pediátrico (2007)¹⁴ estuda a evolução dos últimos 25 anos, mostrando que o número de transplantes cardíacos na faixa etária pediátrica mantém-se estável nos últimos 15 anos, com um total de cerca de 400 transplantes por ano em 80 centros.

Em relação à imunossupressão, observa-se uma tendência à maior utilização do tacrolimus em substituição à ciclosporina, com relato de redução no número de rejeições, em cerca de 10%, no primeiro ano após o transplante, no entanto sem diferença na mortalidade tardia. Observa-se ainda um aumento

na utilização do micofenolato mofetil como droga imunossupressora, associada ao inibidor de calcineurina, em substituição à azatioprina ¹⁴.

Apesar da significativa melhora na sobrevida, de 80 a 90% em cinco anos e 40% em 20 anos, a rejeição aguda ainda permanece com incidência de 20 a 35%, sendo responsável, junto com a falência do enxerto e a doença coronariana em 70% dos óbitos após cinco a dez anos do transplante ¹⁴.

1.1. Rejeição cardíaca

A rejeição cardíaca constitui-se em uma das principais causas de morbidade e mortalidade, sendo mais freqüente no primeiro ano após o transplante ¹⁵. A rejeição pode ser hiperaguda, aguda humoral (vascular), aguda celular e crônica (doença vascular do enxerto ou doença coronariana) ¹⁶.

A rejeição hiperaguda é rara e ocorre em minutos ou horas após o restabelecimento da circulação corpórea. É causada por anticorpos pré-formados ao sistema ABO, aos antígenos de histocompatibilidade (HLA) ou endoteliais. A apresentação clínica mais freqüente é a insuficiência cardíaca grave com choque cardiogênico refratário, podendo resultar na perda do enxerto¹⁶.

Rejeição aguda celular é a forma mais comum de rejeição, principalmente nos primeiros três a seis meses pós-transplante. Trata-se de uma resposta mediada por células T, com infiltrado de linfócitos e macrófagos

levando a lise dos miócitos, podendo ser assintomática ou com sinais e sintomas de cansaço, mal-estar e taquicardia. Em geral, a maioria dos pacientes apresenta pelo menos um episódio de rejeição aguda celular moderada a severa na evolução pós-operatória de transplante ¹⁷.

A classificação pelos achados histológicos da biópsia endomiocárdica é determinada pela intensidade e distribuição do infiltrado celular no miocárdio e da presença ou ausência de necrose das fibras miocárdicas ¹⁸, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação da rejeição cardíaca segundo critérios da Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pulmonar (ISHLT) – 1990

Grau 0	Ausência de rejeição
Grau 1A	Infiltrado focal (perivascular ou intersticial), ausência de sinais de lesão aos miócitos
Grau 1B	Infiltrado difuso esparso e ausência de lesão aos miócitos
Grau 2	Focal com infiltrado agressivo e lesão aos miócitos
Grau 3A	Infiltrado multifocal agressivo e/ou lesão aos miócitos
Grau 3B	Infiltrado difuso, com agressão à fibra miocárdica
Grau 4	Infiltrado difuso com polimorfonucleares com hemorragia e necrose de miócitos

FONTE: Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pediátrico, 1990

Esta nomenclatura sofreu modificações pela ISHLT em 2004 ¹⁵, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Graduação da biópsia endomiocárdica: rejeição celular aguda – 2004

Grau 0	Ausência de rejeição
Grau 1R	Discreta: infiltrado perivascular e/ou intersticial com lesão isolada a miócitos
Grau 2R	Moderada: dois ou mais focos associados a lesão de miócitos
Grau 3R	Importante: infiltrado difuso com lesão multifocal a miócitos, na presença ou ausência de edema, hemorragia ou vasculite

FONTE: Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pediátrico, 2004

A rejeição humoral ou também denominada rejeição vascular é causada por anticorpos contra a célula T, anticorpos direcionados ao sistema HLA e aos antígenos das células endoteliais do doador. Pode atingir até 15% dos pacientes no primeiro ano pós-transplante, sendo mais freqüente em pacientes sensibilizados por transplante prévio, transfusão, gravidez ou uso de suporte mecânico para assistência ventricular. A apresentação clínica, com grave comprometimento hemodinâmico, está relacionada à disfunção ventricular devido à isquemia difusa ^{16,19,20}.

No estudo anátomo-patológico, a rejeição humoral é identificada pela combinação de achados histológicos e imuno-histoquímicos, envolvendo os capilares do miocárdio. As células endoteliais encontram-se tumefeitas e ocorre

acúmulo intravascular de macrófagos. O edema intersticial e a hemorragia podem estar presentes, com neutrófilos envolvendo os capilares. Trombos intravasculares e necrose de miócitos com ausência de infiltrado celular também podem ser observados ¹⁵. Na imunofluorescência, os capilares apresentam-se com acúmulo de uma ou mais imunoglobulinas (IgG, IgM ou IgA) e complemento (C3d, C4d, C1q). A imunohistoquímica identifica depósitos de C4d, CD68, CD31 ou CD34 ^{15,21}.

A classificação da rejeição humoral segue o consenso da ISHLT de 2004 ²², conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Classificação da biópsia endomiocárdica em relação à rejeição humoral

AMR	Ausência de evidências histológicas ou imunopatológicas de rejeição
0	humoral
AMR	Achados histológicos compatíveis com rejeição humoral
1	Imunofluorescência ou imunoperoxidade positiva (CD68 ou C4d)

FONTE: Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pediátrico, 2004

Os fatores de risco descritos associados à rejeição tardia (após o primeiro ano) são: mais de um episódio de rejeição no primeiro ano, receptores de raça negra e de idade mais avançada. A rejeição tardia, principalmente nos pacientes com comprometimento hemodinâmico, está diretamente relacionada à menor sobrevida na evolução ²³.

1.2. Métodos diagnósticos de rejeição

O diagnóstico precoce da rejeição é essencial para a evolução clínica favorável. A biópsia endomiocárdica ainda permanece como padrão ouro no diagnóstico. Embora outros métodos não invasivos como o ecocardiograma, a cintilografia com Gálio-67 e a ressonância magnética têm sido investigados e utilizados ²⁴⁻²⁷. Azeka et al. ¹ realizaram estudo da evolução clínica de pacientes pediátricos utilizando métodos não invasivos na avaliação da rejeição revelando sobrevida tardia de 73%.

1.2.1. Métodos invasivos:

1.2.1.1. Biópsia endomiocárdica

A biópsia endomiocárdica apresenta suas limitações devido a dificuldades técnicas, custo e complicações principalmente quando realizada em crianças. As principais complicações são: derrame pericárdico, perfuração cardíaca, arritmias, lesão vascular e insuficiência tricúspide, com possibilidade de erros na amostra coletada, bem como tamanho insuficiente, além da variação entre observadores quanto à interpretação dos achados histológicos

^{28,29}. A insuficiência tricúspide ocorre em 30 a 84% dos pacientes adultos ³⁰ e, em grau importante em 18% da população pediátrica ²⁹.

Há controvérsias na literatura quanto ao intervalo da biópsia endomiocárdica na evolução tardia do transplante cardíaco ³¹⁻³³. Kuhn et al. (2003) ³⁴ relatam 8 a 10% de episódios de rejeição moderada detectada pela biópsia endomiocárdica em pacientes assintomáticos e com mais de dez anos de transplante.

1.2.1.2. Parâmetros hemodinâmicos:

Estudos em pacientes adultos mostram aumento da pressão sistólica e diastólica do ventrículo direito e da pressão capilar pulmonar durante episódios de rejeição cardíaca aguda ^{35,36}.

Na faixa etária pediátrica, Rosenthal et al.³⁷ (2004) avaliaram 49 crianças com 281 biópsias e não observaram correlação entre medidas hemodinâmicas e achados histológicos para discriminação entre os grupos com rejeição e ausência de rejeição.

1.2.2. Métodos não invasivos:

1.2.2.1. Ecocardiograma

O ecocardiograma tem sido um dos principais métodos diagnósticos na avaliação de insuficiência cardíaca e na rejeição após transplante cardíaco. É considerado como método seguro, prático, com baixo custo, permitindo avaliar de forma rápida e seriada, parâmetros da função ventricular sistólica e diastólica ^{38,39}. A função sistólica é avaliada rotineiramente pelo modo-M (método de Teicholz) e a função diastólica pode ser avaliada através do Doppler transmitral, fluxo de veias pulmonares, color M-mode, medidas do tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e Doppler tecidual ⁴⁰.

Os primeiros sinais ecocardiográficos relacionados à rejeição cardíaca foram o aumento da espessura da parede e da massa do ventrículo esquerdo ⁴¹. Outros parâmetros associados à rejeição cardíaca são: o aparecimento ou o aumento de derrame pericárdico pré-existente, as alterações na função valvar e as alterações da função sistólica ventricular ^{42,43}.

Em relação à avaliação da função diastólica, apesar dos avanços técnicos e dos novos métodos empregados, a sensibilidade e especificidade do método permanecem baixas, sendo questionável seu papel no diagnóstico de rejeição cardíaca ⁴⁴.

Behera et al. ⁴⁵ em 2008 compararam 267 ecocardiogramas com Doppler tecidual e biópsia endomiocárdica, através de análise multivariada em crianças, sendo que o único dado preditor de rejeição foi a razão entre a velocidade de E/E' dos anéis mitral e tricúspide menor que cinco, com valor preditivo negativo de 93% e 89%, respectivamente.

1.2.2.2. Eletrocardiograma

Alterações no eletrocardiograma, como queda da somatória das voltagens do eletrocardiograma maior que 25%, presença de alternância de potenciais ou de arritmias, podem ser interpretados como sinais indiretos de rejeição cardíaca, mas apresentam baixa especificidade, quando avaliados isoladamente⁴⁶⁻⁴⁸.

1.3. Marcadores biológicos

Alterações hormonais e marcadores biológicos para avaliação da função do enxerto, após o transplante cardíaco em humanos, têm sido estudados e incluem peptídeos natriuréticos do tipo B (BNP), fator natriurético atrial (ANP), adrenomedulina (ADM), troponina cardíaca T (cTnT), proteína C reativa (PCR), fator de crescimento endotelial, glicoproteína 130 e citocinas como fator de necrose tumoral α (TNF α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6).^{49,50}

Alguns destes marcadores têm sido comparados com os achados da biópsia endomiocárdica no diagnóstico de rejeição celular, no entanto os resultados ainda são controversos, principalmente na faixa etária pediátrica⁴⁹⁻

1.3.1. Peptídeos natriuréticos

Estudos com microscopia eletrônica de células musculares atriais e ventriculares realizados por Kisch (1963)⁵³ e Jamieson & Palade (1964)⁵⁴, marcaram o início das pesquisas de polipeptídeos hormonais denominados fatores natriuréticos, sendo o fator natriurético atrial (ANF) o primeiro a ser isolado.

Estes polipeptídeos apresentavam como característica biológica uma resposta natriurética significativa, com queda da pressão arterial sistêmica e aumento de hematócrito⁵⁵, efeitos estes testados experimentalmente por de Bold em 1981⁵⁶.

Os peptídeos natriuréticos representam uma família de peptídeos estruturalmente similares, caracterizados por uma estrutura anelar comum de 17 aminoácidos. Consistem em três componentes principais liberados na corrente sanguínea: peptídeo natriurético atrial (ANP) e peptídeo natriurético cerebral ou tipo B (BNP), originados em células do miocárdio e peptídeo natriurético tipo C (CNP), originado de células endoteliais, além da urodilatina, um peptídeo encontrado na urina⁵⁵.

Em 1983, Flynn e de Bold⁵⁷, após isolarem e seqüenciarem o BNP, iniciaram pesquisas para correlacionar os níveis séricos da porção circulante com o diagnóstico e tratamento da insuficiência cardíaca.

1.3.2. Peptídeo natriurético cerebral (tipo B, BNP):

O peptídeo natriurético cerebral (BNP) é hormônio homólogo ao ANP (neurohormônio liberado por células miocárdicas do átrio e, em menor quantidade, nos ventrículos), sendo a porção fisiologicamente ativa constituída de 32 aminoácidos ⁵⁸.

Foi inicialmente identificado no cérebro e posteriormente no coração, principalmente em miócitos do ventrículo. Apresenta baixas concentrações plasmáticas em condições fisiológicas, com aumento significativo em situações patológicas, como hipertrofia ventricular e insuficiência cardíaca ⁵⁸.

A concentração de BNP é menor que 20% da quantidade de ANP circulante em indivíduos normais, mas pode equalizar ou exceder os níveis nos pacientes com insuficiência cardíaca congestiva ⁵⁹.

O NT pró-BNP é metabólito inativo do pró-BNP, tem sido descrito como peptídeo útil na avaliação da insuficiência cardíaca e na avaliação prognóstica em candidatos ao transplante cardíaco. Por apresentar maior estabilidade sérica e não ser degradado pela neuroptidase que metaboliza o BNP, parece ter meia-vida maior que o BNP ⁶⁰.

1.3.3. Valores de normalidade do BNP:

Estudo realizado em indivíduos saudáveis mostra aumento dos níveis de BNP com a idade e no gênero feminino. Os autores concluem que 90% dos adultos jovens saudáveis apresentam valores de BNP menores que 25 pg/ml⁶⁰.

Soldin et al.⁶¹, em 2006, avaliaram 808 pessoas de 0 a 21 anos, com número significativo de indivíduos em cada faixa etária, mostrando valores elevados de BNP em neonatos (1585 pg/ml) e em crianças até seis meses de idade (263 pg/ml), com pouca variação nas demais faixas etárias. Neste estudo, não foi observada diferença entre os sexos, mantendo o percentil 95 em torno de 100 pg/ml.

1.3.4. Aplicações clínicas do BNP:

O BNP apresenta secreção regulada pela tensão na parede miocárdica e níveis plasmáticos elevados na insuficiência cardíaca sistólica e/ou diastólica^{62,63} e, em casos com sobrecarga de volume,⁶⁴ revelando ser preditor no desenvolvimento de insuficiência cardíaca e de mortalidade cardiovascular⁶⁵⁻⁶⁸.

Níveis séricos elevados de BNP (maior que 200pg/ml) mostram sensibilidade de 100% e especificidade de 97,1%, com valor preditivo positivo de 97,3% e valor preditivo negativo de 100% para diagnóstico de insuficiência cardíaca descompensada em pacientes adultos⁶⁹ e sensibilidade de 80% e

especificidade de 86% como preditor de mortalidade ⁷⁰. Em alguns estudos, o BNP está relacionado ao aumento da pressão venosa central e pressão capilar pulmonar ⁷¹.

Na faixa etária pediátrica, o BNP apresenta-se com níveis elevados em cardiopatias congênitas, com sobrecarga volumétrica e/ou disfunção miocárdica, bem como em portadores de miocardiopatias ⁷²⁻⁷⁵.

1.3.5. BNP e rejeição cardíaca:

O nível sangüíneo de BNP tem se mostrado elevado durante episódios de rejeição após o transplante cardíaco, independente das alterações hemodinâmicas ou da função ventricular, sendo este aumento relacionado, em estudos experimentais, à interação do BNP com o sistema imune. ^{76,77} Estudos com imunohistoquímica mostram que o BNP é produzido, além dos cardiomiócitos, por células T, macrófagos e células endoteliais, com sua liberação estimulada por citocinas como interleucinas (IL-6 e IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), presentes na fase aguda do processo inflamatório ⁷⁷.

Na população adulta, estudos mostram que os níveis sangüíneos de BNP mantêm-se elevados nos primeiros dois meses após o transplante impossibilitando o diagnóstico de rejeição, reduzindo seus níveis de forma progressiva em um período de seis meses, quando então se pode observar correlação com os achados histológicos da rejeição ^{78,79}.

A avaliação dos níveis sanguíneos de BNP e biópsia mostra boa acurácia do método na detecção de episódios de rejeição, com valores que variaram entre 101 a 194 pg/ml na rejeição até grau 3 A e níveis de 1144 a 1843pg/ml em graus mais avançados, com valor preditivo negativo de 98% e valor de corte em 130 pg/ml ⁸⁰.

Martinez et al.⁸¹ em 2008, avaliaram o BNP em um período de nove a 12 meses após transplante cardíaco e observaram maior número de eventos, como morte, rejeição tardia (após o primeiro ano) ou disfunção do enxerto, nos pacientes com aumento maior que 20% dos níveis de BNP.

Em crianças, Claudius et al.⁸² observaram que níveis séricos de BNP estão elevados após transplante cardíaco, com disfunção ventricular sintomática por rejeição ou coronariopatia pós-transplante.

Lan et al.⁸³ relatam em estudo com 44 crianças, que este peptídeo mantém-se elevado logo após o transplante, com diminuição dos níveis a valores menores de 100 pg/ml em 14 semanas, em um período de seguimento de 171 meses.

Rossano et al. 2008 ⁸⁴ comparando níveis sanguíneos de BNP e os achados histológicos da biópsia endomiocárdica, mostraram correlação entre a elevação dos níveis do peptídeo natriurético acima de 100 pg/ml e a presença de rejeição.

1.3.6. BNP e doença coronariana

A doença coronariana após transplante (DCPT) é um dos principais fatores limitantes da sobrevivência de adultos e crianças submetidas ao transplante cardíaco.^{8, 85}

Estudos mostram que a incidência da DCPT varia de 30% a 50%, dependendo do período de evolução pós-transplante analisado e do esquema de imunossupressão. Os fatores associados à maior incidência de doença coronariana e perda do enxerto são: idade mais avançada do receptor, maior número de rejeições, presença de rejeição tardia e de doença coronariana moderada a importante, detectada por angiografia e por ultra-som intravascular.⁸⁵⁻⁹¹

A avaliação da doença coronariana do enxerto pelo estudo angiográfico é recomendada após o primeiro ano de transplante e na presença de sintomas de insuficiência cardíaca, arritmia, dor precordial ou síncope⁸⁶.

Há relatos de correlação entre doença coronariana do enxerto e aumento dos níveis séricos de BNP, sendo seu aumento influenciado por inúmeros mecanismos a nível molecular, como inflamação, ativação imune, remodelamento cardíaco e lesão vascular⁹².

Porém, são escassos estudos que analisam níveis de BNP e sua relação com diagnóstico de rejeição cardíaca avaliada pela biópsia endomiocárdica e detecção da doença coronariana pela angiografia na faixa etária pediátrica, o que motivou este estudo.

OBJETIVOS

2. Objetivos

Avaliar o peptídeo natriurético tipo B no diagnóstico de rejeição aguda em crianças submetidas ao transplante cardíaco ortotópico.

Avaliar o papel do BNP como método adicional não invasivo na elucidação diagnóstica da doença coronariana após transplante.

Comparar parâmetros clínicos, ecocardiográficos e hemodinâmicos em relação à biópsia endomiocárdica no diagnóstico de rejeição cardíaca aguda.

MÉTODOS

3.1. Casuística

3.1.1. Local da pesquisa:

Realizou-se estudo transversal em pacientes submetidos ao transplante cardíaco ortotópico no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), durante o período compreendido entre junho de 2005 a outubro de 2006.

3.1.2. Procedimentos éticos para realização da pesquisa

O trabalho foi realizado de acordo com o protocolo de seguimento para os pacientes transplantados no Instituto do Coração (InCor) HC-FMUSP e não acarretou nenhum risco suplementar aos envolvidos no estudo.

O exame do BNP, como método de diagnóstico não necessita preparo especial do paciente. As medidas de coleta do material e de proteção aos pacientes foram aquelas já empregadas na instituição para pacientes imunossuprimidos, recomendadas pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH).

O projeto foi aprovado previamente pela Comissão Científica e de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa do Instituto do Coração (InCor) HCFMUSP e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (número do protocolo de pesquisa 222/05). Consentimento livre e esclarecido foi assinado pelo representante legal das crianças.

A pesquisa teve apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo 04/12313-4 (Apêndice), aprovado em 24 de fevereiro de 2005.

3.1.3. Desenho do estudo:

Estudo transversal em 33 pacientes submetidos à biópsia endomiocárdica de forma consecutiva, totalizando 50 biópsias. A biópsia

endomiocárdica foi realizada de acordo com o protocolo de rotina do transplante cardíaco pediátrico do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), sendo indicada nos casos de suspeita de rejeição aguda e por ocasião do cateterismo anual.

Para análise dos dados, os pacientes foram divididos em grupos com rejeição e ausência de rejeição, sendo avaliados os níveis sanguíneos de BNP em ambos.

3.1.4. Caracterização dos Pacientes

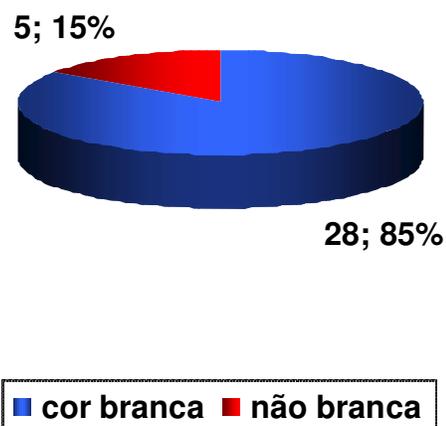
a. Idade

A idade dos pacientes variou de quatro anos a 18 anos, com média de 10,1 anos e desvio padrão de 4,5 anos.

b. Cor

Quanto à distribuição dos pacientes segundo a cor, 28 (84,8 %) eram brancos e cinco (15,2 %) não brancos (Figura 1).

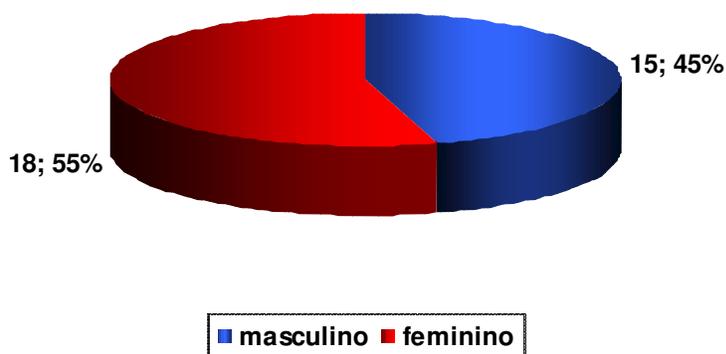
Figura 1 - Distribuição dos 33 pacientes estudados segundo a cor – (jun 2005 a out 2006)



c. Sexo

Dos pacientes com transplante, 18 (54,5%) eram do sexo feminino e quinze (45,5%) do sexo masculino (figura 2).

Figura 2 - Distribuição dos 33 pacientes estudados em relação ao gênero
– (jun 2005 a out 2006)



d. Peso

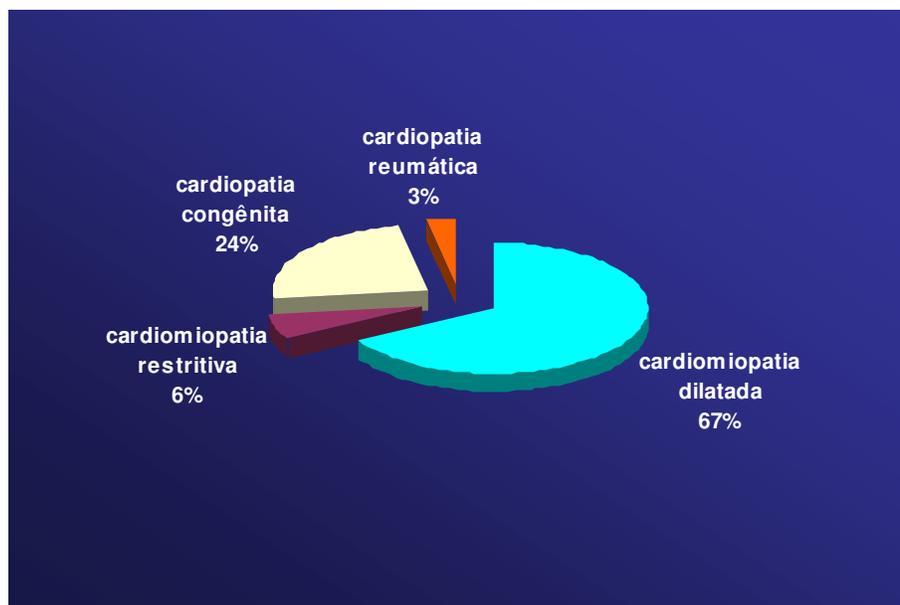
O peso variou de 12 a 78 Kg, com média de 34,9 Kg e desvio padrão de 16,7 Kg. A estatura variou de 90 a 170 cm, com média de 136,8 cm e desvio padrão de 23,3 cm.

e. Tipo de cardiopatia

As indicações para o transplante cardíaco foram cardiomiopatia dilatada em 22 (67%) pacientes, cardiomiopatia restritiva em dois (6%), cardiopatia

congenita em oito (24%) e cardiopatia reumática em um paciente (3%), conforme a Figura 3.

Figura 3 - Tipo de cardiopatia dos 33 pacientes – (jun 2005 a out 2006)



f. Grupo sangüíneo

Quanto à distribuição dos pacientes, segundo o grupo sangüíneo, 15 eram do grupo O, 12 eram do grupo A, três do grupo B, três do grupo AB, conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Grupo sanguíneo dos 33 pacientes estudados (jun 2005 a out 2006)

GRUPO SANGÜÍNEO	n	%
O	15	45,0
A	12	37,0
B	3	9,0
AB	3	9,0

n: número de pacientes receptores; %: Percentagem de pacientes

g. Painel imunológico

A pesquisa de anticorpos antígenos de histocompatibilidade no soro do receptor no momento pré-transplante (que expressa o grau de sensibilização do receptor) foi representada pelo painel imunológico que variou de zero a 10% (Tabela 5).

Tabela 5 - Painel imunológico dos 33 pacientes em pós-operatório de transplante cardíaco pediátrico que se submeteram ao estudo (jun 2005 a out 2006)

PAINEL IMUNOLÓGICO	n¹	%
ZERO	21	66
≤ 10%	10	31
> 10%	1	3

n: número de pacientes; %: Percentagem de pacientes

¹ OBS : um paciente não tem análise do painel imunológico

3.2. Métodos

3.2.1. Critérios de inclusão e de exclusão

Os critérios de inclusão utilizados para a realização do estudo foram: pacientes em seguimento no grupo de transplante cardíaco pediátrico com mais de seis meses de evolução após o transplante cardíaco e cujos responsáveis concordaram com o cateterismo cardíaco e com o estudo.

Os critérios de exclusão utilizados foram: pacientes que não realizaram cateterismo de rotina no período do estudo e falha na coleta ou armazenamento do material.

3.2.2. Avaliação dos elementos clínicos:

Os elementos valorizados do quadro clínico para diagnóstico de rejeição aguda foram: alteração de humor, anorexia, sintomas gastrointestinais (náuseas e dor abdominal), febre, arritmia e sinais e sintomas clínicos de insuficiência cardíaca congestiva (cansaço ao exercício ou em repouso, dispnéia paroxística noturna, ortopnéia, palpitações ou síncope).

3.2.3. Avaliação dos elementos de pós-operatório dos receptores no momento da biópsia

Foram coletados os seguintes dados: tempo de evolução após transplante cardíaco, número total de episódios de rejeição, idade no momento do transplante, imunossupressão utilizada, necessidade de drogas vasoativas e /ou medicação anticongestiva e presença de insuficiência renal ou anemia.

Avaliou-se o número total de rejeição de cada paciente, a presença de rejeição tardia (mais de um ano de evolução) e a doença vascular do enxerto em relação ao nível sanguíneo do BNP.

3.2.4. Exames subsidiários:

Foram realizadas as seguintes avaliações laboratoriais: uréia, creatinina (mg/dl), hemoglobina e hematócrito (%) na semana do cateterismo cardíaco.

3.2.5. Imunossupressão

A imunossupressão de manutenção foi o esquema duplo, isto é, utilização de uma droga inibidora da calcineurina e um citostático³³.

O tratamento dos episódios de rejeição celular foi feito com metilprednisolona, na dose de 125 a 500 mg a cada 12 horas, por quatro dias

nos casos com rejeição, sendo a globulina antitimocitária utilizada nos casos com instabilidade hemodinâmica.

Realizou-se a terapia da rejeição humoral com plasmaferese, ciclofosfamida, corticóide, imunoglobulina antitimocitária e rituximab (anticorpo monoclonal anti-CD20)⁹³.



3.2.6. Métodos diagnósticos da rejeição aguda

Os exames realizados para detecção de rejeição nos pacientes submetidos ao transplante cardíaco foram:

- método invasivo:

- cateterismo cardíaco direito com biópsia endomiocárdica;

- métodos não invasivos:

- ecocardiograma com Doppler colorido
- dosagem sanguínea de BNP

3.2.6.1. Cateterismo cardíaco:

O estudo hemodinâmico foi realizado com aparelho Poly Diagnost C2 - Phillips modelo M 205; XRE Corporation, Littleton, Massachusetts, Estados

Unidos, novembro 1994, com técnica de Judkins, e acessos arterial e venoso via femoral.

Cateterismo direito foi realizado pelo cateter de Swan-Ganz 5 ou 7Fr, sendo obtida medida de débito cardíaco pelo método de termodiluição e, avaliando-se as seguintes medidas: pressão média de átrio direito, pressão média de capilar pulmonar, pressão média de artéria pulmonar, pressão na aorta, débito cardíaco e cálculo dos índices de resistência vascular pulmonar e sistêmica.

Por meio de introdutor arterial 5Fr, o cateter “Judkins right” foi posicionado no ventrículo esquerdo com um suporte de guia, para registro de pressões. Posteriormente, realizada coronariografia direita e esquerda e definindo a presença ou não de coronariopatia, de acordo com a classificação de Gao et al (1988), citado por Azeka et al ¹³.

Analisou-se cada artéria, procurando estabelecer o grau de redução da luz do vaso, em pelo menos duas incidências: oblíqua anterior direita e oblíqua anterior esquerda. Este método foi considerado o teste padrão para definição de presença ou não da doença coronariana. Considerou-se exame positivo para doença coronariana após transplante (DCPT), quando a obstrução do lume foi $\geq 50\%$.

As lesões $< 50\%$ foram consideradas como irregularidades parietais, não sendo valorizadas.

Na classificação de Gao et al, as lesões coronarianas à angiografia, são classicamente definidas em tipo A, B e C. Tipo A: estenoses discretas, de maneira tubular, múltiplas, localizadas nas regiões proximais, médias e/ou distais em artérias principais e/ou seus ramos; Tipo B: concêntricas, difusas envolvendo o terço médio e distal das artérias principais e seus ramos; tipo C: difusas, irregulares, com perda dos pequenos ramos distais, freqüentemente de forma não gradual, isto é, de forma abrupta.

3.2.6.2. Biópsia endomiocárdica

As peças foram coradas com hematoxilina e eosina para exame microscópico e os resultados foram graduados de acordo com critérios da Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco (ISHLT) ¹⁸.

A pesquisa de rejeição humoral foi realizada por imunofluorescência, com marcadores para imunoglobulinas IgG, IgM e IgA. A classificação de rejeição humoral seguiu o consenso da ISHTL de 2004 ²².

Neste estudo, considerou-se rejeição os pacientes com rejeição aguda celular, quando a biópsia endomiocárdica apresentou grau igual ou maior que dois, e/ou rejeição humoral, diante da presença de sinais histológicos compatíveis com rejeição humoral, associado à presença de disfunção ventricular com necessidade de terapêutica.

3.2.6.3 Ecocardiograma

As imagens ecocardiográficas foram adquiridas com equipamento Philips, modelo HDI 5000 (Bothel, Washington, USA), e HEWLETT PACKARD, SONOS modelo 5500 com transdutores de 3,5 ou 5 Hz, variando de acordo com o peso da criança. Foram analisados, no ecocardiograma bidimensional, os planos subcostal, apical, paraesternal e supraesternal, realizadas as medidas uni e bidimensionais das estruturas cardíacas e a avaliação pelo Doppler espectral e colorido dos fluxos cardíacos, seguindo as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia ^{94,95}.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: diâmetro de septo e parede na diástole, diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo, diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo, grau de insuficiência valvar, presença de derrame pericárdico. A fração de ejeção foi calculada pelo método de Teicholz ⁹⁴.

Foi realizada análise da função diastólica pela mensuração da velocidade do fluxo transvalvar mitral, obtida pelo Doppler pulsado, com amostra de volume posicionada entre as bordas das cúspides, no plano apical quatro câmaras, sendo obtidas as seguintes medidas:

- velocidade de pico da onda E (E mitral) em cm/s, representando o fluxo sanguíneo na fase de enchimento rápido ou precoce do ventrículo esquerdo;
- velocidade de pico da onda A (A mitral), em cm/s, representando o fluxo transvalvar durante a contração atrial ou fase tardia da diástole;
- relação entre as velocidades das ondas E Mitral e A Mitral (razão E/A)

O Doppler tecidual, ou a análise dos sinais de movimentação miocárdica, foi obtido através da configuração especial do aparelho de ecocardiograma (ajuste automático de filtro e ganho), e, realizado no plano apical quatro câmaras, na região dos anéis da valva mitral e tricúspide. As velocidades de pico sistólica (S), as velocidades de pico precoce (E) e tardio (A) foram medidas em cm/s.

3.2.7. Análise do peptídeo natriurético tipo B (BNP)

O BNP foi coletado no momento da biópsia endomiocárdica das crianças submetidas ao transplante cardíaco. O método de dosagem de BNP utilizado foi o teste Triage^R (Biosite Diagnostics), teste de imunofluorescência para determinação quantitativa do BNP em sangue ou plasma conservados com EDTA como anticoagulante.

Depois de colocada amostra de sangue no dispositivo, o sangue é separado do plasma por um filtro. Uma quantidade predeterminada de plasma é colocada sob reação com anticorpos fluorescentes. Após um período de incubação, a amostra segue para uma análise onde se detecta os complexos formados com os anticorpos fluorescentes.

O material utilizado para dosagem pode ser tanto sangue total em um período de quatro horas após a coleta, ou plasma, separado e estocado em temperatura de -20 graus, homogeneizado e trazido à temperatura ambiente antes da realização do teste. O BNP é estável por, pelo menos um ano, quando congelado a -20° C. Neste estudo, foi utilizado material que havia sido armazenado por um período máximo de seis meses após a coleta.

3.2.8. Análise estatística

Foi realizada análise descritiva dos dados dos 33 pacientes, quanto às informações referentes aos dados demográficos, clínicos, de exames pré e pós-transplante.

As variáveis quantitativas foram descritas pelas medidas de tendência central e de dispersão (mínimo, máximo, mediana, média e desvio padrão). Os

dados qualitativos foram analisados por tabelas de freqüências absolutas e relativas. Foram elaborados gráficos com a finalidade de ilustrar os dados.

Para avaliação das diferenças entre os níveis sanguíneos do BNP, nos grupos com rejeição ou ausência de rejeição utilizou-se o teste Mann-Whitney (não paramétrico)⁹⁶. Além disso, foram calculadas a sensibilidade e a especificidade pela curva ROC para estabelecer o valor de maior sensibilidade na detecção dos pacientes com rejeição aguda, adotando-se como padrão ouro a biópsia endomiocárdica.

Para avaliar comparativamente a dosagem de BNP com o “padrão ouro” (a biópsia endomiocárdica) no diagnóstico de rejeição aguda foram calculados índices de sensibilidade e especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo.

Os grupos, divididos em pacientes com rejeição e ausência de rejeição, foram avaliados através de testes de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis (dados numéricos) e teste de Fisher (dados nominais) e comparadas as variáveis clínicas, ecocardiográficas e medidas hemodinâmicas.

Os resultados foram interpretados utilizando-se o nível de significância p menor que 5%^{96,97}.

RESULTADOS

4.1. Dados clínicos e demográficos:

Foram analisadas 50 biópsias endomiocárdicas consecutivas de 33 crianças submetidas ao transplante cardíaco, durante um período de 17 meses. Os pacientes foram divididos em dois grupos, segundo o resultado da biópsia endomiocárdica: grupo de pacientes com rejeição e grupo de pacientes com ausência de rejeição.

Não houve diferença significativa entre os dois grupos, em relação à análise de idade, sexo, tipo sanguíneo e painel imunológico. Os dados clínicos e antropométricos estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Dados clínicos das 33 crianças, comparando-se o grupo com rejeição e ausência de rejeição - (jun 2005 a out 2006)

variável	Rejeição (n = 8)	Ausência de rejeição (n = 25)	p
Peso (Kg) mediana (min-max)	29,0 (17,0-70,0)	31,0 (12,0-78,0)	1,00⁽¹⁾
Estatura (m) mediana (min-max)	1,3 (1,1-1,7)	1,3 (0,9-1,8)	0,85⁽¹⁾
IMC mediana (min-max)	16,0 (14,0-25,4)	16,7 (12,2-27,0)	0,95⁽¹⁾
Sexo feminino (%)	4/8 (50%)	14/25 (56%)	1,0⁽²⁾
Cor branca (%)	8/8 (100%)	20/25 (80%)	0,30⁽²⁾
Painel imunológico (> 0%)	1/8 (12,5%)	9/25 (36%)	0,38⁽²⁾
Idade atual ⁽³⁾ (anos) (mediana, min- max)	11,6 (7,8-16,1)	10,1 (4,1-19,8)	0,88⁽¹⁾
Idade no momento do transplante (anos)	5,4 (2,5-12,5)	3,7 (0,4-15,6)	0,27⁽¹⁾

⁽¹⁾ teste Mann-Whitney; ⁽²⁾ teste de Fisher bicaudal;

⁽³⁾ Idade em 01/10/2006

A idade dos pacientes no momento da biópsia variou de 4,1 a 19,8 anos, com mediana de 10,3 anos, e tempo de transplante de 4,3 anos (6 meses a 13,7 anos), sendo que dois pacientes (6%) tinham menos de um ano de transplante no momento da coleta do BNP.

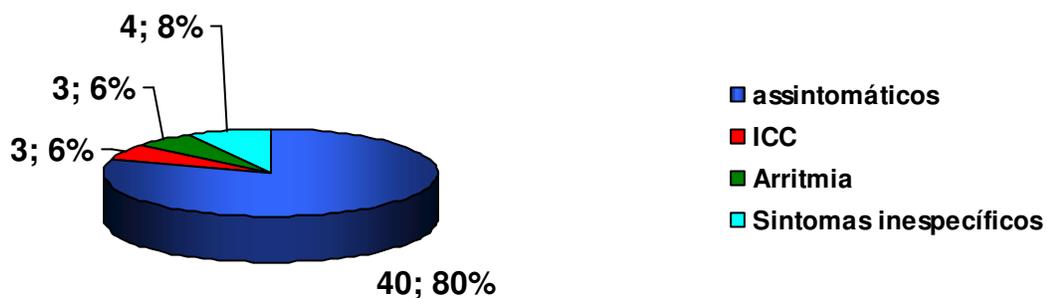
O tempo de transplante no momento da biópsia foi de 3,5 anos (8 meses a 9,7 anos) no grupo com rejeição, e 5,5 anos (6 meses a 13,7 anos) no grupo sem rejeição, com $p = 0,21$.

Em relação à sintomatologia, o cateterismo cardíaco com biópsia endomiocárdica foi realizado como procedimentos de rotina em 36 (72%) pacientes. Dez biópsias (20%) foram realizadas devido à suspeita clínica de rejeição, e quatro (8%) como controle terapêutico após tratamento de rejeição.

Seis (75%), dos oito pacientes com rejeição estavam assintomáticos no momento da biópsia.

Os sintomas mais freqüentes que levaram à indicação de biópsia foram: arritmias (taquicardia ou bradicardia), cansaço e edema de membros inferiores, além de sintomas inespecíficos como tontura, palidez, dor abdominal e náuseas, conforme a Figura 4.

Figura 4 – Quadro clínico dos 33 receptores no momento da biópsia endomiocárdica (jun 2005 a out 2006)

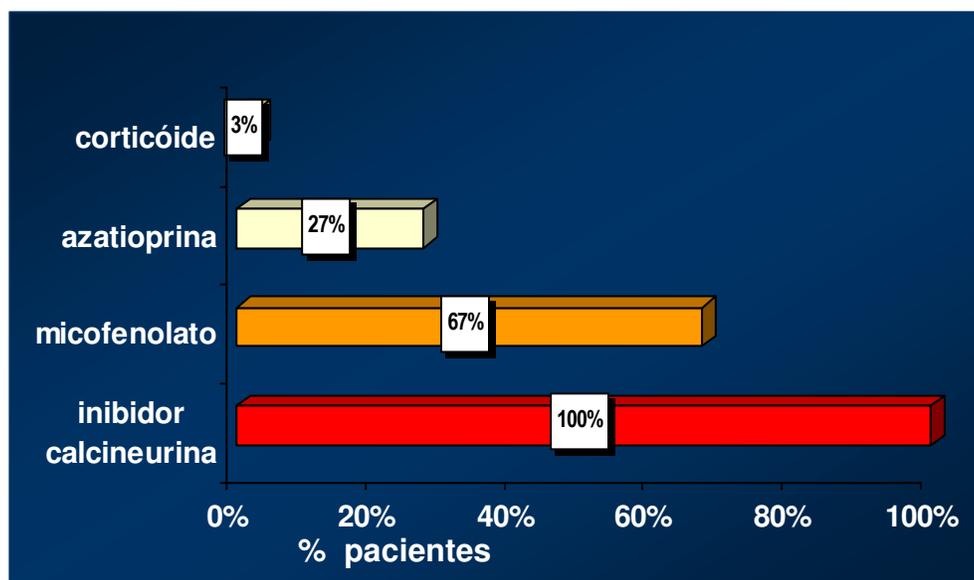


O paciente com rejeição humoral foi o que apresentou clínica mais exuberante, com quadro inicial de bradiarritmia que progrediu para sinais de disfunção biventricular e choque cardiogênico, culminando no óbito, a despeito da terapêutica empregada com globulina antitimocitária, plasmaferese e anticorpo monoclonal anti-CD20.

O número médio de rejeições prévias foi de três por paciente, variando de uma a cinco rejeições com desvio padrão de 1,3.

Em relação à imunossupressão, inibidor de calcineurina foi utilizado em 33 (100%) dos pacientes, em combinação com micofenolato mofetil em 22 (66,6%) e azatioprina em 9 (27%). O corticóide como imunossupressor de manutenção foi utilizado somente em um paciente (Figura 5).

Figura 5 – Medicação imunossupressora de manutenção dos 33 pacientes no momento da biópsia endomiocárdica - (jun 2005 a out 2006)



4.2. Exames subsidiários:

A análise entre os grupos com rejeição e ausência de rejeição não evidenciou diferença em relação à presença de anemia ou alterações de função renal (Tabela 7).

Tabela 7 - Exames laboratoriais realizados antes da biópsia endomiocárdica nas 50 amostras - (jun 2005 a out 2006)

Exames	Com rejeição (n = 9)	Ausência de rejeição (n = 41)	p
Hematócrito (%)	36	37	0,14
Hemoglobina (g/dl)	11,5	12	0,68
Uréia (g/dl)	39	45	0,73
Creatinina (g/dl)	0,6	0,75	0,62

n: número de pacientes; %: Percentagem de pacientes ;g/dl (grama/decilitro)

4.3. Resultado das biópsias endomiocárdicas do ventrículo direito:

Foram realizadas 50 biópsias em 33 pacientes, sendo que 14 pacientes (42%) fizeram mais que uma biópsia, variando de uma a quatro, com média de 1,5 biópsias por paciente, conforme Tabela 8.

Tabela 8 - Distribuição do número de biópsias por pacientes - (jun 2005 a out 2006)

Número de biópsias	Freqüência absoluta (n)	Freqüência relativa(%)
1	19	56%
2	12	36%
3	1	3%
4	1	3%
TOTAL	33	100%

n: número de pacientes; %: Percentagem de pacientes

Os pacientes com menos de um ano de transplante foram os que realizaram maior número de biópsias, indicadas por suspeita clínica de rejeição. Das sete biópsias realizadas neste grupo, o diagnóstico de rejeição de grau moderado (3 A) foi detectado em 14% dos pacientes.

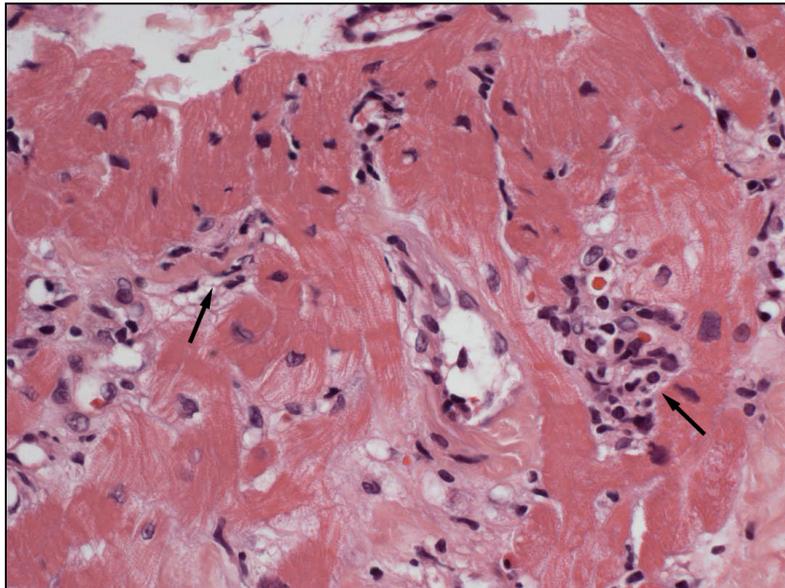
A biópsia endomiocárdica revelou rejeição em nove amostras (27%) dentre oito pacientes: três com grau 3 A (Figura 6), cinco com grau 2 e uma rejeição humoral (Figura 7) sem evidências de rejeição celular (Tabela 9).

Tabela 9 – Especificação das rejeições encontradas nas 50 biópsias, segundo a classificação da ISHLT de 1990 - (jun 2005 a out 2006)

	n (%)
Grau 3 A	3 (33%)
Grau 2	5 (56%)
Rejeição humoral	1 (11%)

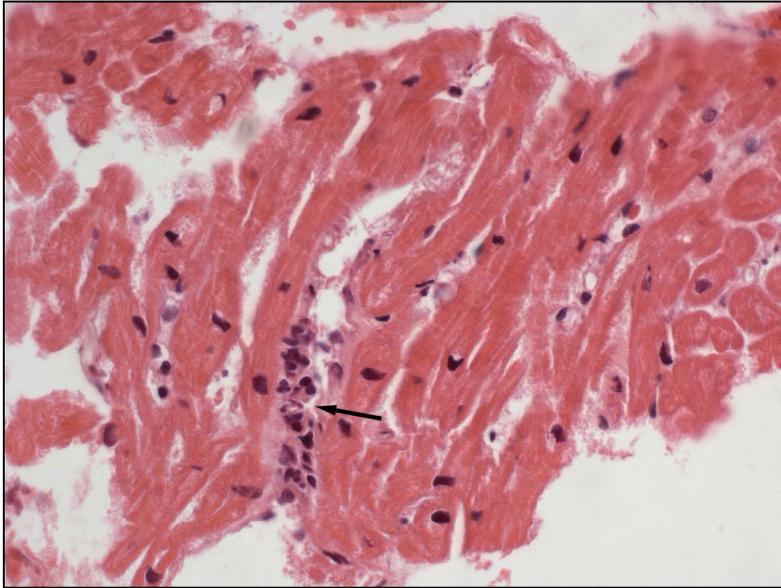
ISHLT: Sociedade Internacional de Transplante Cardíaco e Pulmonar

Figura 6 – Biópsia endomiocárdica caracterizando rejeição aguda celular grau 3A



Legenda: Biópsia endomiocárdica evidenciando infiltrado inflamatório mononuclear com focos de agressão dos cardiomiócitos (setas), caracterizando rejeição aguda celular grau 3A (HE, x400)
FONTE: Instituto do Coração - HCFMUSP – biópsia: B05/2365 (set/05)

Figura 7 – Biópsia endomiocárdica caracterizando rejeição aguda humoral



Legenda: Biópsia endomiocárdica evidenciando infiltrado inflamatório misto, com neutrófilos, permeando pequeno vaso da microcirculação (seta). Note ausência de processo inflamatório no miocárdio propriamente dito. Aspecto histológico consistente com rejeição aguda humoral (HE, x400)

FONTE: Instituto do Coração - HCFMUSP – biópsia B06/441 (fev/06)

4.4. Ecocardiograma:

A análise do ecocardiograma mostrou alterações em quatro (44%) das nove amostras com rejeição e em quatro (10%) das 41 biópsias no grupo de pacientes que não apresentaram rejeição, com valor preditivo positivo de 50% e valor preditivo negativo de 88%.

As alterações ecocardiográficas encontradas nos pacientes com rejeição foram:

- disfunção sistólica biventricular em um paciente com rejeição humoral;
- função sistólica global preservada com alteração de contratilidade segmentar (hipocinesia septal), disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (VE) do tipo alteração do relaxamento ao fluxo pela valva mitral e redução da velocidade da onda E' ao Doppler tecidual nas paredes septal e livre do ventrículo direito em um paciente com rejeição grau 3 A;
- disfunção sistólica e diastólica de VE em paciente com rejeição grau 2 ;
- presença de insuficiência mitral moderada não detectada em avaliações progressas do ecocardiograma em um paciente com rejeição celular 3 A.

Não houve diferença entre os grupos em relação à espessura de septo e parede, dimensão de cavidades e pressão sistólica de artéria pulmonar analisada pelo Doppler da valva tricúspide.

A presença de derrame pericárdico discreto foi observada em um paciente com biópsia negativa.

A sensibilidade do ecocardiograma para detecção de rejeição foi de 44% e especificidade de 90%, com $p= 0,02$ (Tabela 10).

Tabela 10 – Avaliação dos parâmetros ecocardiográficos utilizados em pacientes após transplante cardíaco para o diagnóstico de rejeição aguda - (jun 2005 a out 2006)

	Rejeição (n=9)	Ausência de rejeição (n=41)	p
DDVE (mm) (MED, min-max)	40,0 (33,0-45,0)	37,0 (30,0-50,0)	0,75
DSVE (mm) (MED, min-max)	25,0 (19,0-32,0)	23,0 (15,0-31,0)	0,08
septo (mm)	7 (5-11)	7 (5-12)	0,63
parede (mm)	7 (5-10)	7 (4-10)	0,88
PSVD (insuficiência tricúspide) (mmHg)	43 (33-47)	35 (26-42)	0,20
Derrame pericárdico	0	1	
Insuficiência valvar moderada / importante*	1	2	
E/A <1	1	0	0,02
Alteração Doppler tecidual	1	1	
Disfunção sistólica biventricular	1	0	

DDVE: diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo; PSVD: pressão sistólica do ventrículo direito.

*alteração em relação ao exame anterior

4.5. Cateterismo cardíaco:

4.5.1. Parâmetros hemodinâmicos

Comparando-se os grupos com rejeição e ausência de rejeição não se observou diferença em relação à pressão sistólica pulmonar, pressão capilar pulmonar, resistência vascular pulmonar e sistêmica. Houve uma tendência a valores menores de débito cardíaco no grupo com rejeição, conforme demonstrado na Tabela 11.

Tabela 11 - Avaliação hemodinâmica de pacientes após transplante cardíaco pediátrico, nos grupos rejeição e ausência de rejeição (jun 2005 a out 2006)

	Rejeição (n=9)	Ausência de rejeição (n=41)	p⁽¹⁾
DC (l/min)	2,6 (2,3-3,3)	3,4 (1,6-5,6)	0,07
PAP(S) (mmHg)	23,0 (15-30)	22,0 (15-36)	0,85
PAP(D) (mmHg)	10,0 (5-25)	10,0 (6-28)	0,79
PCP (mmHg)	9,0 (7-12)	10,0 (6-20)	0,31
RVP (Woods)	1,7 (0,9-3,0)	1,3 (2,0-16,0)	0,92
RVS (Woods)	17,4 (13,0-27,3)	17,0 (7,7-26,2)	0,75
PA(S) (mmHg)	80,0 (70,0-100,0)	90,0 (23,0-125,0)	0,75
AD (mmHg)	7,0 (5-9)	6,5 (3-12)	0,82

DC: débito cardíaco; PAP(S): pressão arterial pulmonar sistólica; PAP(D): pressão arterial pulmonar diastólica; PCP: pressão capilar pulmonar; RVP: resistência vascular pulmonar; RVS: resistência vascular sistêmica; PA (S): pressão arterial sistólica; AD: pressão de átrio direito.

⁽¹⁾ Teste Mann-Whitney

4.6. Doença coronariana

A doença coronariana foi detectada em quatro pacientes, sendo a mediana da idade atual dos pacientes de 16,4 anos, período de pós-transplante de 7,2 anos e idade, no momento do transplante, de 7,0 anos.

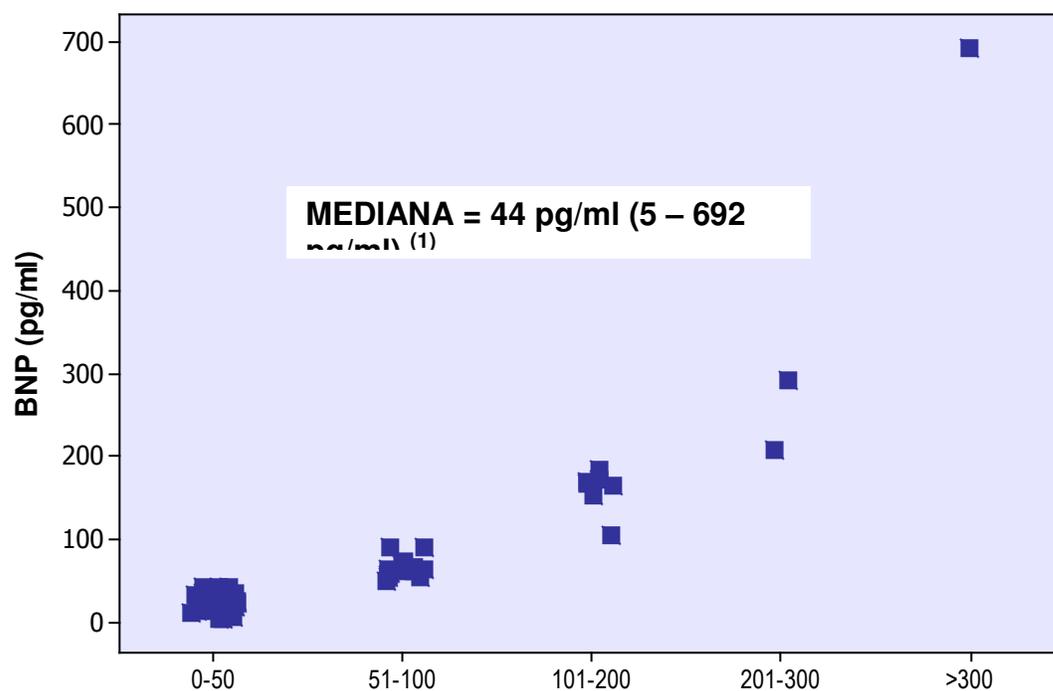
O tempo de aparecimento da doença coronariana foi em média 4,5 anos, variando de 1,4 a 8,5 anos. Dois pacientes apresentaram lesões multiarteriais, recebendo tratamento com angioplastia e *stent*, e um foi submetido à revascularização miocárdica.

4.7. Dosagens sanguíneas de BNP:

4.7.1. BNP e rejeição aguda:

A mediana do nível sanguíneo de BNP foi 44 pg/ml, conforme demonstrado na Figura 8.

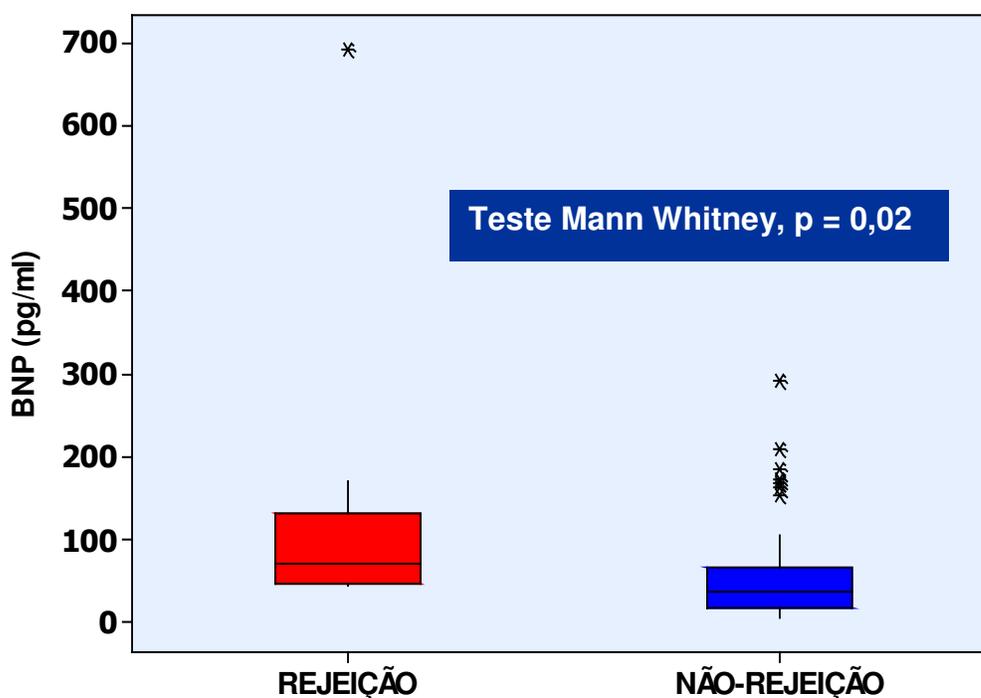
Figura 8 – Estratificação dos níveis sanguíneos de BNP no momento da biópsia endomiocárdica – (jun 2005 a out 2006)



(1) n= 50 amostras

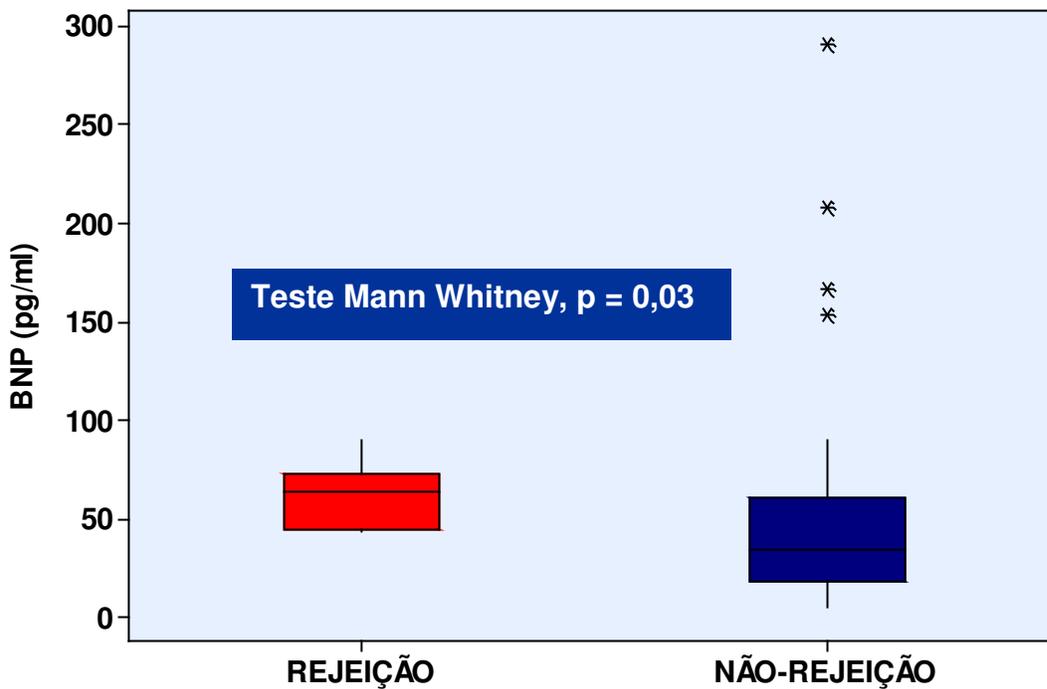
A mediana do nível sanguíneo de BNP foi de 79,9 pg/ml, sendo de 144,2 pg/ml no grupo com rejeição e de 65,8 pg/ml no grupo de pacientes que não apresentaram rejeição, $p = 0,02$ (Figura 9).

Figura 9 – Avaliação dos níveis séricos de BNP para detecção de rejeição cardíaca em 33 pacientes após transplante cardíaco pediátrico– (jun 2005 a out 2006)



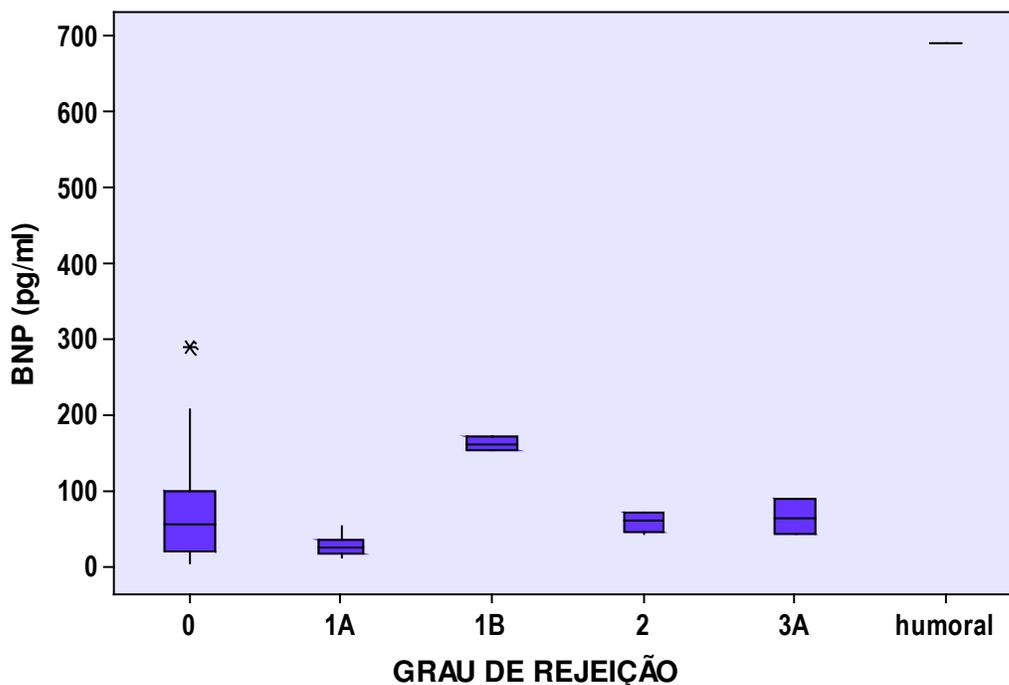
O maior nível de BNP no grupo com rejeição foi encontrado no paciente com rejeição humoral. No grupo sem rejeição os maiores níveis são concordantes com a presença de coronariopatia. Excluindo-se estes pacientes observamos uma mediana de 64,0 pg/ml no grupo com rejeição celular, sem coronariopatia, e 34,5 pg/ml no grupo com ausência de rejeição e sem coronariopatia, com $p = 0,03$, Figura 10.

Figura 10 – Avaliação dos níveis séricos de BNP para detecção de rejeição aguda celular após transplante cardíaco em pacientes sem doença arterial coronariana – (jun 2005 a out 2006)



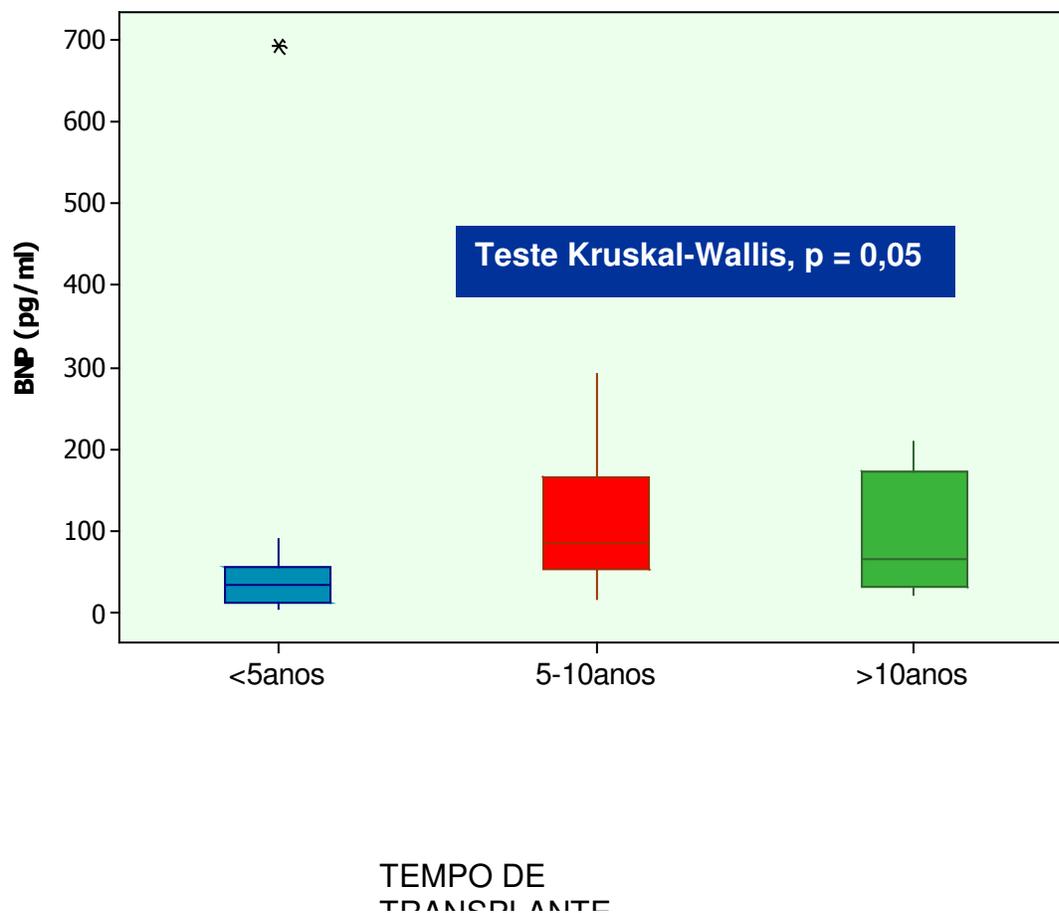
A estratificação dos pacientes, de acordo com o resultado da biópsia, está demonstrada na Figura 11.

Figura 11 - Resultado das biópsias endomiocárdicas do ventrículo direito, comparados aos níveis de BNP – (jun 2005 a out 2006)



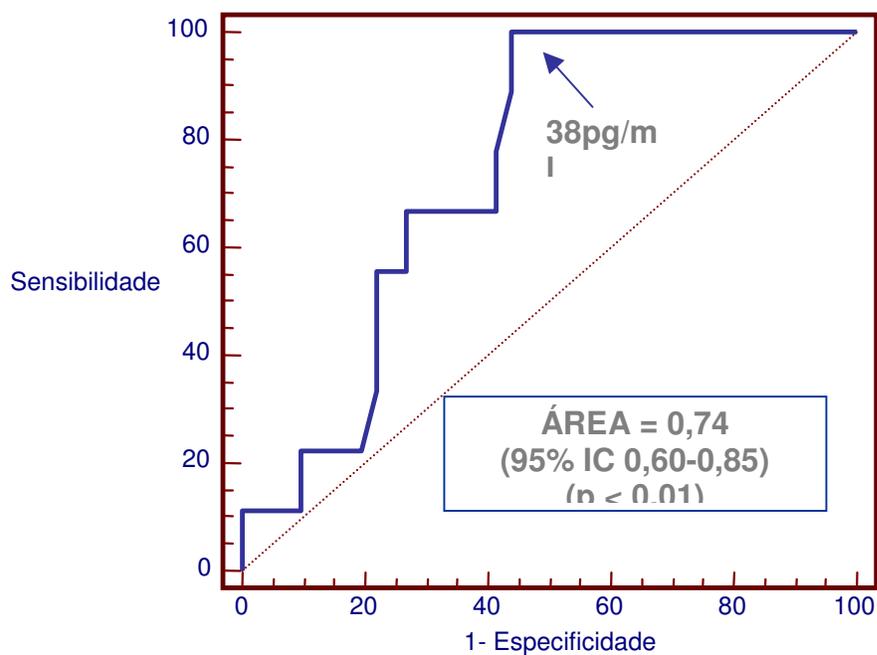
Com o intuito de avaliar possível alteração dos níveis sanguíneos de BNP, em relação ao tempo após transplante, dividiu-se os pacientes em grupos caracterizados com menos de cinco anos de transplante ($n=35$; mediana 35 pg/ml), entre cinco e dez anos ($n=12$; 84 pg/ml) e mais de dez anos de transplante cardíaco ($n=11$; 65 pg/ml), sendo encontrada diferença significativa dos níveis sanguíneos de BNP entre as medianas dos grupos, com $p = 0,05$ pelo teste de Kruskal-Wallis, sendo que a comparação entre os grupos (teste de Dunn) demonstrou diferença significativa entre pacientes com menos de 5 anos e entre 5 e 10 anos de transplante ($p < 0,05$), conforme Figura 12.

Figura 12 – Avaliação da influência do tempo de transplante cardíaco nos níveis séricos de BNP – (jun 2005 a out 2006)



Análise dos níveis sangüíneos de BNP, em relação ao diagnóstico de rejeição aguda, foi avaliada por curva ROC, mostrando que níveis sangüíneos de BNP, maiores que 38 pg/ml apresentaram sensibilidade de 100% e especificidade de 56% na detecção de rejeição cardíaca, com área sobre a curva de 0,74, $p= 0,01$ (Figura 13). Níveis sangüíneos de BNP, em 100 pg/ml, apresentaram sensibilidade de 22% e especificidade de 83% para o diagnóstico de rejeição, conforme Tabela 12.

Figura 13 – Valor de corte de BNP com maior acurácia para o diagnóstico de rejeição cardíaca determinado através de curva ROC nas 50 amostras



OBS: O valor ideal de corte está destacado.
 ROC: *Receiver Operating Characteristics*

Tabela 12 - Níveis sanguíneos de BNP na detecção de rejeição aguda

BNP	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
-----	---------------	----------------	-----	-----

(pg/ml)				
38	100,0 (66,2-100,0)	56,1 (39,8-71,5)	33,3(16,6-54,4)	100,0 (85,0-100,0)
51	66,7 (30,1-92,1)	58,5 (42,1-73,7)	26,1(10,3 - 48,4)	88,9 (70,8 - 97,5)
73	33,3 (7,9-69,9)	78,0 (62,6-89,4)	25,5 (5,8- 57,2)	84,2 (68,7 – 93,9)
105	22,2 (3,5-59,9)	82,9 (67,9-92,8)	22,2 (3,5 – 59,9)	82,9 (67,9 – 92,8)
208	11,1 (1,8-48,3)	97,6 (87,1-99,6)	50,0 (8,2- 91,8)	83,3 (69,8 – 92,5)
291	11,1 (1,8-48,3)	100,0 (91,3-100,0)	100,0 (16,5 – 100,0)	83,7 (70,3 –92,7)

Valores expressos em porcentagem com intervalo de confiança de 95% entre parênteses. VPP, valor preditivo positivo; VPN, valor preditivo negativo

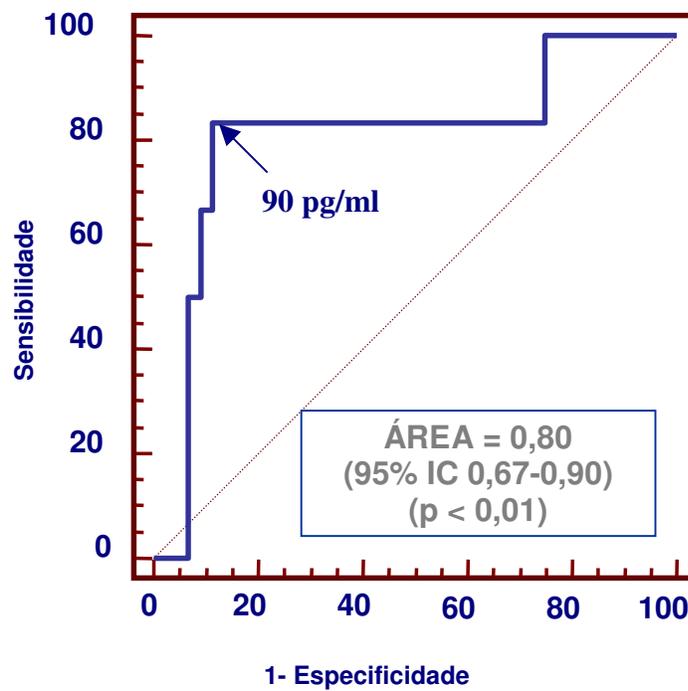
O valor preditivo negativo é de 100% com BNP menor que 38 pg/ml e 22% com BNP menor que 105 pg/ml.

4.7.2. Correlação da elevação do BNP e doença coronariana:

Os níveis de BNP foram maiores que 100 pg/ml na maioria dos pacientes com doença coronariana, com mediana de 167,5 pg/ml, em relação a mediana de 40,5 dos pacientes que não apresentaram doença coronariana, com $p = 0,01$. Esta relação foi independente da presença de disfunção ventricular ou da presença de rejeição cardíaca aguda.

A curva ROC mostra ponto de corte de 90 pg/dl como ideal para diagnóstico de doença coronariana, com área sobre a curva de 0,80 e $p = 0,005$, Figura 14.

Figura 14 – Valor de corte de BNP para o diagnóstico de doença arterial coronariana através de curva ROC nas 50 amostras



OBS: O valor ideal de corte está destacado.
ROC: *Receiver Operating Characteristics*

Tabela 13 - Níveis sanguíneos de BNP na detecção de doença coronariana após transplante cardíaco pediátrico

BNP (pg/ml)	Sensibilidade	Especificidade
21	83,3 (36,1-97,2)	25,0 (13,2-40,3)
90	83,3 (36,1-97,2)	88,6 (75,4-96,2)
105	66,7 (22,7-94,7)	88,6 (75,4-96,2)
154	66,7 (22,7-94,7)	90,9 (78,3-97,4)
184	0,0 (0,0-45,9)	93,2 (91,9-100,0)

Valores expressos em porcentagem com intervalo de confiança de 95% entre parênteses.

4.7.3. BNP e outras variáveis:

A divisão em grupos de acordo com o percentil 50, em pacientes com valores de BNP menores que 50 pg/ml e maiores que 50 pg/ml, foi realizada visando detectar outros fatores, que não a rejeição cardíaca, relacionados ao aumento de BNP. Observamos diferença nos grupos em relação ao tempo de transplante no momento da coleta do BNP, aos níveis de uréia e a resistência vascular pulmonar.

Não se observa diferença significativa entre os grupos em relação pressão capilar pulmonar, débito cardíaco, pressão arterial sistêmica e níveis de hemoglobina e hematócrito, conforme Tabela 14.

Tabela 14 – Avaliação de elementos clínicos e laboratoriais relacionados à elevação dos níveis de BNP em pacientes após transplante cardíaco, dividido de acordo com o percentil 50

	BNP < 50 pg/ml (n=26) MED (min,max)	BNP >50 pg/ml (n=24) MED (min,max)	p⁽¹⁾
Tempo de transplante no momento da BNP (anos)	2,44 (0,6-11,9)	5,5 (0,8-12,6)	0,006
Hemoglobina (g/dl)	12,0 (10,0-18,0)	12,0 (10,0-14,0)	0,08
Hematócrito (%)	36,5 (31,0-55,0)	36,0 (32,0-42,0)	0,24
Uréia (mg/dl)	37,5 (20,0-52,0)	45,0 (27,0-117,0)	0,03
Creatinina (mg/dl)	0,6 (0,4-1,4)	0,7 (0,4-1,47)	0,54
PCP (mmHg)	11,0 (6,0-15,0)	10,0 (7,0 -20,0)	0,91
RVP (Wood)	1,1 (0,5-16,0)	2,0 (0,2-2,8)	0,05
DC (L/min)	3,6 (1,6-5,6)	3,1 (2,3-4,5)	0,24
PAS sistólica (mmHg)	90,0 (23,0-110,0)	80,0 (70,0-20,0)	0,10

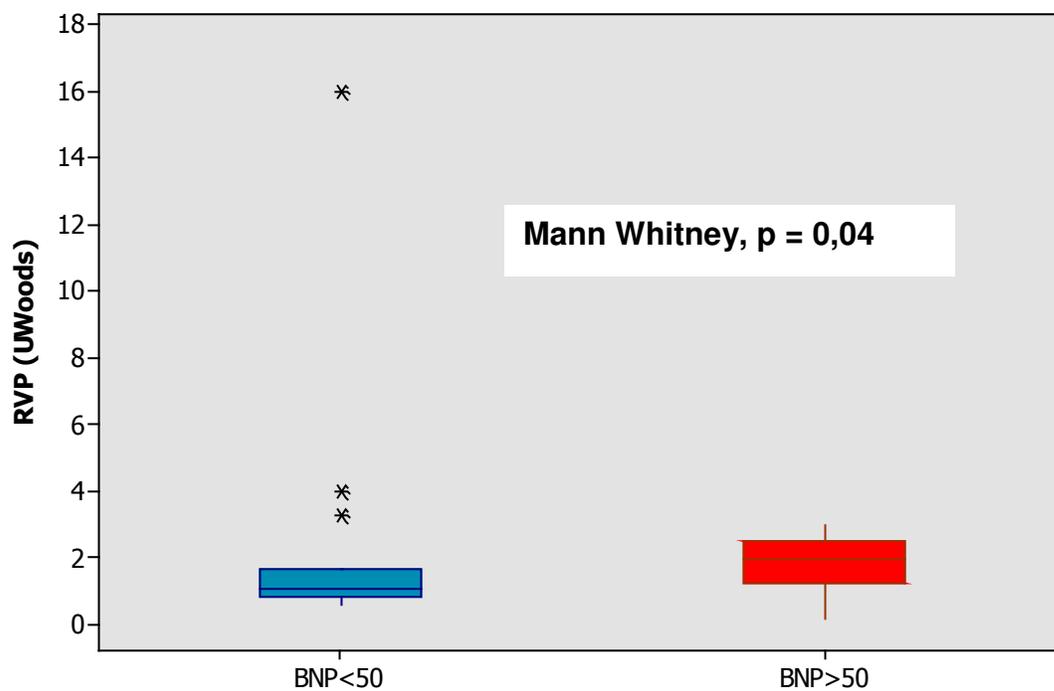
PCP (pressão capilar pulmonar); RVP (resistência vascular pulmonar); DC (débito cardíaco); PAS (pressão arterial sistêmica) FEVE (Fração de ejeção do ventrículo esquerdo)

⁽¹⁾ Teste Mann-Whitney

Alteração da função renal esteve presente em dois pacientes que apresentaram níveis elevados de BNP, 208 pg/ml e 291 pg/ml, na ausência de rejeição aguda ou de doença coronariana.

A resistência vascular pulmonar também foi significativamente maior ($p = 0,04$) no grupo com BNP maior que 50 pg/ml, conforme Figura 15.

Figura 15: Avaliação da influência da resistência vascular pulmonar nos níveis séricos de BNP (pg/ml) após transplante cardíaco pediátrico – (jun 2005 a out 2006)



DISCUSSÃO

5. Discussão:

O transplante cardíaco ortotópico tem possibilitado a sobrevivência de crianças portadoras de cardiopatias complexas e cardiomiopatias com insuficiência cardíaca refratária.

Trata-se de procedimento terapêutico cujo acompanhamento pós-operatório é complexo, envolvendo uma série de cuidados na prevenção e tratamento das possíveis complicações.

A sobrevivência média já ultrapassa vinte anos, no entanto, a rejeição aguda, a doença arterial coronariana e a falência do enxerto ainda permanecem como as principais causas de morbidade e mortalidade^{14,98,99}.

5.1. Rejeição cardíaca

A rejeição cardíaca está associada à falência do enxerto bem como ao desenvolvimento de doença coronariana em decorrência da presença de anticorpos anti-HLA e do infiltrado de linfócitos ¹⁰⁰. Isoladamente, a rejeição aguda, é responsável por cerca de 10% de mortalidade mesmo após dez anos de evolução pós-operatória ¹⁴. Nosso estudo corrobora com estes dados evidenciando rejeição em 18% das amostras, com 12% de mortalidade durante o período avaliado.

Em nosso trabalho, 25% dos pacientes com rejeição apresentavam sintomas no momento da biópsia, sendo que todos os pacientes com rejeição grau 3 A estavam assintomáticos. No entanto, dos pacientes com grau 2 de rejeição à biópsia endomiocárdica 40% apresentavam sintomas com necessidade de tratamento clínico, dados estes indicativos da necessidade de métodos adicionais, que possam auxiliar o diagnóstico de rejeição.

Estudos ^{34,101} ressaltam a importância da realização da biópsia anualmente, mesmo após cinco anos de transplante visando, a detecção de episódios de rejeição, pois demonstram que a ausência de rejeição nos primeiros anos não prediz ausência de rejeição tardia.

Levi et al. ³³, estudando 1093 biópsias de crianças após transplante cardíaco, descrevem a presença de rejeição celular (maior que grau 2) em 9,1% dos pacientes sintomáticos e, em 0,3% dos assintomáticos Esta baixa prevalência de resultados positivos é associada, segundo os autores à imuno-

histoquímica associada ao estudo histopatológico visando reduzir o número de falso positivos.

Em relação às complicações inerentes à biópsia endomiocárdica, como tamanho da amostra ou material com fibrina que impossibilitasse a análise, lesão vascular, tamponamento cardíaco ou arritmias, não foram freqüentes na população estudada.

Assim, diante da possibilidade de episódios de rejeição aguda em pacientes assintomáticos com risco de morte súbita, pesquisadores têm sido motivados na procura de métodos diagnósticos menos invasivos, com alta sensibilidade e especificidade, que possam ser repetidos de forma rápida e em curto período, sendo este também o foco deste estudo ¹⁰²⁻¹⁰⁴.

5.2. Métodos para o diagnóstico de rejeição cardíaca:

5.2.1. Cateterismo cardíaco:

Em análise multivariada de parâmetros hemodinâmicos e nível sérico de BNP comparados com a biópsia endomiocárdica realizada por Wu et al.³⁶ em adultos, somente o BNP foi preditor de rejeição cardíaca.

Rosenthal et al.³⁷ estudaram 281 biópsias em crianças e encontraram diferenças entre dados de pressão média de artéria pulmonar, pressão diastólica final do ventrículo direito e pressão média do átrio direito entre os grupos sem rejeição e com rejeição maior que dois, porém a sensibilidade foi baixa para afastar a presença de rejeição, não demonstrando, portanto nenhuma aplicação clínica.

A avaliação de medidas hemodinâmicas, não apresentou neste estudo correlação significativa com os resultados de biópsia, dados concordantes com descrições da literatura na faixa etária pediátrica³⁷.

5.2.2. Ecocardiograma

O ecocardiograma é método diagnóstico utilizado para diagnóstico de rejeição aguda em pacientes submetidos ao transplante cardíaco, dispondo de vários parâmetros para avaliação de função e fluxos intracavitários, mas ainda há necessidade de novos estudos para avaliação de sua acurácia¹⁰⁵.

A sensibilidade do método para o diagnóstico de rejeição cardíaca no nosso estudo foi de 44%, equivalente à sensibilidade encontrada por Asante-Kourang et al.⁴⁴, e especificidade de 90%, compatível com Tantengco et al.¹⁰⁶.

Os principais parâmetros envolvidos na rejeição são: aumento dos diâmetros diastólicos e sistólicos do ventrículo esquerdo no modo M, aumento de diâmetro de septo e parede, redução da fração de ejeção e redução da velocidade da onda E' no nível do anel mitral, com aumento da relação E/E' mitral^{43, 45,107-111}, além de alterações na análise do índice de performance miocárdica (índice de Tei)¹¹². A redução de 10% da velocidade das ondas E' e S ao Doppler tecidual tem um valor preditivo negativo de 96% e 93% respectivamente para o diagnóstico de rejeição em adultos¹¹³, porém com resultados controversos na faixa etária pediátrica^{44, 105}.

No nosso estudo as alterações associadas à rejeição foram resultantes de disfunção ventricular sistólica e/ou diastólica de ventrículo esquerdo e progressão de insuficiência valvar, concordante com os achados descritos.

Alterações de função diastólica do ventrículo direito são encontradas de forma evolutiva após cinco anos de transplante e não estão correlacionadas à rejeição^{114,115}. Fyfe et al.¹¹⁰ avaliaram pacientes pediátricos que evoluíram para disfunção do enxerto devido à doença coronariana, correlacionando a presença de alteração da velocidade E' e A' ao Doppler tecidual, no nível de anel tricúspide, aumento da insuficiência tricúspide e redução da fração de ejeção como preditores de maior mortalidade. No nosso estudo, somente um dos

pacientes com doença coronariana apresentou alterações ao Doppler tecidual, ao nível da parede septal do ventrículo esquerdo e ao nível do anel tricúspide.

5.3. BNP após transplante cardíaco

O papel do BNP tem sido intensamente investigado na insuficiência cardíaca e no transplante, visando orientação terapêutica, colaborando no diagnóstico e no prognóstico.^{71, 116-121}

O primeiro relato de correlação significativa entre BNP e rejeição do enxerto foi descrito por Masters et al em 1999¹²², em uma série pequena de dez pacientes adultos, entre quatro e quarenta semanas após o transplante, com níveis de BNP > 400 pg/ml mostrando forte correlação com rejeição maior ou igual a 2.

Estudos na população adulta mostram queda dos níveis de BNP somente após seis meses de transplante. No entanto há relatos de valores elevados em seguimento tardio (mais de um ano), suscitando discussões sobre os mecanismos que possam estar envolvidos em relação a este aumento dos níveis após o transplante cardíaco^{123,124}.

Em crianças, os níveis de BNP estão elevados no primeiro mês após o transplante, com declínio gradual após este período e normalização (BNP < 100 pg/ml) em 14 semanas⁸³.

A elevação dos níveis do peptídeo do tipo B está também relacionada ao aumento de pressão diastólica final do ventrículo esquerdo e à presença de dispnéia, com aumento gradativo de valores, relacionado ao decréscimo da função cardíaca, sendo que um valor normal de BNP tem um alto valor preditivo negativo para insuficiência cardíaca. Nosso estudo corrobora com tais dados, pois níveis mais elevados de BNP estiveram relacionados à classe funcional mais avançada.

5.3.1. Níveis séricos de BNP e biópsia endomiocárdica:

A avaliação dos níveis séricos de BNP comparados com a biópsia endomiocárdica demonstrou neste estudo ser um indicador de rejeição cardíaca.

O valor encontrado como corte para diagnóstico de rejeição cardíaca aguda avaliada pela curva ROC para sensibilidade de 100%, foi de 38 pg/ml. Este valor, menor que o observado na literatura, que indica o nível de 100 pg/ml como corte para o diagnóstico de rejeição⁸⁴, pode ser indicativo de que quando priorizamos a sensibilidade do método devemos considerar valores menores de BNP.

É importante ressaltar que tal valor está acima dos valores de normalidade descritos na literatura, menor que 25 pg/ml em 90% dos pacientes adultos⁶⁰ e de 24,5 pg/ml a 32 pg/ml para crianças menores de 10 anos^{125,126}.

5.3.2. BNP e doença coronariana

A doença coronariana do enxerto é fator limitante da sobrevivência dos pacientes transplantados. Os fatores de risco para seu desenvolvimento incluem fatores imunes e não imunes. A incidência na população pediátrica ocorre em 2% no primeiro ano, 9% no terceiro ano e 17% no quinto ano após o transplante, ocorrendo de forma moderada a importante em 6% aos cinco anos, comparada com 15% da população adulta ⁸⁵.

No presente estudo, quatro (12%) dos 33 pacientes apresentaram lesões anatômicas detectadas ao estudo angiográfico no período mediano de evolução de 5,2 anos após o transplante, número menor em relação à casuística descrita na literatura, que pode atingir de 30 a 50% dos pacientes, dependendo dos critérios considerados em cada estudo, assim como as características das lesões valorizadas e o tempo de transplante, no momento do cateterismo ^{85-90,127}.

Estudos em crianças mostram relação direta entre o tempo de transplante, a idade atual, a idade no momento do transplante e a história pregressa de rejeições como fatores importantes para o desenvolvimento de doença coronariana ⁸⁶.

Os pacientes do nosso estudo, com doença coronariana, apresentaram níveis significativamente mais elevados de BNP, comparados com os pacientes com ausência de doença coronariana. Esta correlação foi observada também em estudos realizados na população adulta ^{77,92}, mas não há relatos na faixa etária pediátrica.

5.3.3. BNP e outras variáveis

Estudos com análises multivariadas em adultos mostram aumento do BNP relacionados ao sexo feminino, tempo de transplante, idade do doador, sinais angiográficos de coronariopatia, níveis séricos de creatinina e disfunção diastólica ^{128,129}.

Insuficiência renal avançada (com creatinina maior que 2,5 mg/dl) incide em cerca de 3% dos pacientes pediátricos, após transplante cardíaco, aumentando o risco de mortalidade de forma significativa (nove vezes mais, com $p < 0,0001$), sendo que os fatores de risco, relacionados à evolução para doença renal são cardiomiopatia hipertrófica como cardiopatia de base, raça negra e transplante prévio ¹³⁰.

Em nosso estudo, alteração da função renal e aumento da resistência vascular pulmonar estiveram associados a maiores níveis de BNP. O tempo de transplante, no momento da biópsia, foi maior no grupo com BNP maior que 50 pg/ml, provavelmente relacionado à maior incidência de coronariopatia neste

grupo. O débito cardíaco mostrou uma tendência à redução nos pacientes com níveis mais elevados de BNP. Outros fatores, como a presença de anemia, pressão capilar pulmonar e pressão arterial sistêmica não foram relacionados no estudo com aumento de BNP, talvez pelo número reduzido de pacientes com disfunção ventricular.

5.4. Limitações do estudo:

O número limitado de pacientes, com baixo índice de rejeição, dificultou a análise de subgrupos.

5.5. Implicações clínicas:

O BNP demonstrou ser método adicional que pode auxiliar no diagnóstico de rejeição cardíaca. Por se tratar de exame de fácil execução, pouco invasivo e de resultado imediato, pode ser repetido de forma seriada durante os exames laboratoriais de rotina, nos pacientes submetidos ao transplante cardíaco, podendo assim postergar a realização da biópsia endomiocárdica.

A correlação com doença coronariana ressalta a importância do método no seguimento desses pacientes, considerando ser esta uma importante causa de mortalidade após cinco anos de transplante.

A partir deste estudo preliminar, pretendemos implementar o BNP como método de rotina no seguimento das crianças submetidas ao transplante, visando a detecção precoce de rejeição e de doença coronariana, com intuito de reduzir a morbidade e a mortalidade do referido grupo de pacientes.

CONCLUSÕES

6. Conclusões:

O estudo da avaliação do peptídeo natriuretico tipo B após transplante cardíaco pediátrico permitiu-nos concluir que:

O nível sérico de BNP apresentou isoladamente diferença estatisticamente significativa no grupo com rejeição, podendo ser método auxiliar no diagnóstico de rejeição cardíaca.

A doença coronariana esteve associada aos níveis elevados de BNP, independente da presença de rejeição aguda.

Pacientes podem apresentar-se assintomáticos durante episódio de rejeição aguda. O ecocardiograma mostrou baixa sensibilidade para o diagnóstico de rejeição cardíaca, mas alta especificidade. A avaliação dos parâmetros hemodinâmicos não apresentou correlação com os resultados de biópsia.

REFERÊNCIAS

1. Azeka E, Barbero-Marcial M, Jatene M, Auler JO, Ramires JA. Eight years experience of pediatric heart transplantation: clinical outcome using non-invasive methods for the evolution of acute rejection. *Pediatr Transplant.* 2002;6(3):208-13
2. Azeka E, Ramires JA, Valler C, Bocchi E. Delisting of infants and children from the heart transplantation waiting list after carvedilol treatment. *J Am Coll Cardiol.* 2002;4;40 (11):2034-8
3. Williams R, Tani LY, Shaddy RE. Intermediate effects of treatment with metoprolol or carvedilol in children with left ventricular systolic dysfunction. *J Heart Lung Transplant.* 2002;21(8):905-9
4. Melo LG, Pachori AS, Kong D, Gneccchi M, Wang K, Pratt RE, Dzau VJ. Gene and cell-based therapies for heart disease. *FASEB J.* 2004;18:648-62
5. Rosenthal D, Chrisant MRK, Edens E, Mahony L, Canter C, Colan S, Dubin A, Lamour J, Ross R, Shaddy R, Addonizio L, Beerman L, Berger S, Bernstein D, Blume E, Boucek M, Checchia P, Dipchand A, Drummond-Webb J, Fricker J, Friedman R, Hallowell S, Jaquiss R, Mital

- S, Pahl E, Pearce B, Rhodes L, Rotondo K, Rusconi P, Scheel J, Singh TP, Towbin J. International Society for Heart and Lung Transplantation: Practice Guidelines for Management of Heart failure in Children. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23(12):1313-33
6. Barnard CN. The operation A human cardiac transplant an interim report of a successful operation performed at a Groote Schuur Hospital, Cape Town. *Afr J Med Méd Sci*. 1967; 30(41): 1271-4
 7. Kantrowitz A, Haller JD, Joos H, Cerruti MM, Carstensen HE. Transplantation of the heart in an infant and an adult. *Am J Cardiol*. 1968;22:782-90
 8. Boucek MM, Edwards LB, Keck BM, Trulock EP, Taylor DO, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Eighth Official Pediatric Report – 2004. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(8):968-82
 9. Reitz BA, Gaudiani VA, Hunt SA, Wallwok J, Billingham ME, Oyer PE, Baumgartner WA, Jamieson SW, Stinson EB, Shumway NE. Diagnosis and treatment of allograft rejection in heart-lung recipients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1983;85(3):354-61
 10. Stolf NA. Transplante cardíaco no Brasil. *Arq Bras Cardiol*. 1994;63:247-50

11. Barbero-Marcial M, Azeka E, Camargo PR, Riso A, Jatene M, Soares J, Snitcowsky R, Auler JOC, Camargo L, Santos S, Coelho V, Atik E, Ebaid M, Jatene A. Transplante cardíaco neonatal e infantil. *Arq Bras Cardiol.* 1996; 67:165-70
12. Azeka E. Transplante cardíaco em crianças – análise clínica evolutiva. São Paulo, 1996 (tese Doutorado) - Faculdade Medicina, Universidade de São Paulo, 137p
13. Azeka E, Auler Jr JOC, Marcial MB, Fumagali F, Ramires JAF. Heart transplantation in children: Clinical outcome during the early postoperative period. *Pediatr Transplant.* 2005;9:491-97
14. Boucek MM, Aurora P, Edwards LB, Taylor DO, Trulock EP, Cheistie J, Dobbels F, Rahmel AO, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Eighth Official Pediatric Report – 2007. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26(8):796-807
15. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J, Andersen CB, Angelini A, Berry GJ, Burke MM, Demetris A, Hammond E, Itescu S, Marboe CC, McManus B, Reed E, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose AG, Rose M, Sucio-Focia N, Zeevi A, Billingham M. Revision of the 1990 working formulation for

- the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(11):1710-1720
16. Lindenfeld J, Miler GG, Shakar SF, Zolty R, Lowes BD, Wolfel EE, Mestroni L, Page RL, Kobashigawa J. Drug therapy in the heart transplant recipient. Part I: cardiac rejection and immunosuppressive drugs. *Circulation*. 2004;14: 3734-40
 17. Russo LM, Webber SA. Pediatric heart transplantation: immunosuppression and its complications. *Curr Opin Cardiol*. 2004;19:104-9
 18. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant*. 1990;9:587-93
 19. Zales V, Crawford S, Backer CL, Lynch P, Benson W, Mavroudis C. Spectrum of humoral rejection after pediatric heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1993;12(4):563-71
 20. Fishbein M, Kobashigawa J. Biopsy-negative cardiac transplant rejection: etiology, diagnosis, and therapy. *Heart transplant*. 2004;19:166-69

21. Reed EF, Demetris AJ, Hammond E, Itescu S, Kobashigawa JA, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose M, Stewart S, Suci-Foca N, Zeevi A, Fishbein MC. International Society for Heart and Lung Transplantation. Acute antibody-mediated rejection in cardiac transplants. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25(2):153-59

22. Takemoto S, Zeevi A, Feng S, Colvin RB, Jordan S, Kobashigawa J, Kupiec-Weglinski, Matas A, Montgomery RA, Nickerson P, Platt JL, Rabb H, Thistlethwaite R, Tyan D, Delmonico FL. A national conference to assess antibody mediated rejection in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2004;4:1033-41

23. Chin C, Naftel DC, Singh T, Blume E, Luikart H, Berstein D, Gamberg P, Kirklin J, Morrow R and Pediatric Heart Transplantation Group. Risk factors for recurrent rejection in pediatric heart transplantation: a multicenter experience. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(2):178-85

24. Azeka E, Marcial MB, Jatene M, Auler JO Jr, Ramires JA. Eight-year experience of pediatric heart transplantation: clinical outcome using non-invasive methods for the evaluation of acute rejection. *Pediatric Transplant.* 2002;6(3):208-13

25. Bae KT, Hong C, Takahashi N, Gutierrez F, Sharley AM, Hirsch R, Canter CE. *Transplantation*. 2004;77:599-602
26. Zales VR, Crawford S, Backer CL, Pahl E, Webb CL, Lynch P, Mavroudis C, Benson DW. Role of endomyocardial biopsy in rejection surveillance after heart transplantation in neonates and children. *J Am Coll Cardiol*. 1999;23(3):766-71
27. Dixon V, Macauley C, Burch M, Sebire NJ. Unsuspected rejection episodes on routine surveillance endomyocardial biopsy post-heart transplant in pediatric patients. *Pediatr transplant*. 2007;11:286-90
28. Yoshizato T, Edwards WD, Alboliras ET, Hagler DJ, Driscoll DJ. Safety and utility of endomyocardial biopsy in infants, children and adolescents: a review of 66 procedures in 53 patients. *J Am Coll Cardiol*. 1990;15:436-42
29. Hussain A, Balzer D, Thomas P, Ruble S, Canter C. Tricuspid regurgitation after pediatric cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1996;15:436-42
30. Wong RC, Abrahams Z, Hanna M, Pangrace J, Gonzales-Stawinski G, Starling R, Taylor D. Tricuspid regurgitation after cardiac transplantation: an old problem revisited. *J Heart Lung Transplant*. 2008;27(3):247-52

31. Wagner K, Oliver MC, Boyle GJ, Miller SA, Law YM, Pigula F, Webber SA. Endomyocardial biopsy in pediatric heart transplantation. A useful exercise. (Analysis of 1169 biopsies). *Pediatr Transplant.* 2000;4:186-92
32. Stehlik J, Starling RC, Movsesian MA, Fang JC, Brown RN, Hess ML, Lewis NP, Kirklin JK, Cardiac Transplant Research Group. Utility of long term surveillance endomyocardial biopsy: a multi-institutional analysis. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25:1402-9
33. Levi DS, DeConde AS, Fishbein MC, Burch C, Alejos JC, Wetzel GT. The yield of surveillance endomyocardial biopsies as a screen for cellular rejection in pediatric heart transplant patients. *Pediatr Transplant.* 2004;15:22-28
34. Kuhn MA, Deming DD, Cephus CE, Mulla NF, Chinnock RE, Razzouk AJ, Larsen RL. Moderate acute rejection detected during annual catheterization in pediatric heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2003; 22(3):276-80
35. Arnau-Vives MA, Almenar L, Hervas I, Osa A, Martinez-Dolz L, Rueda J, Zorio E, Urbina LMO, Perez JS, Mateo A, Palencia M.

- Predictive value of brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart transplant rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23(7):850-6
36. Wu HA, Johnson ML, Aaronson KD, Gordon D, Dyke DB, Kolling TM. Brain natriuretic peptide predicts serious cardiac allograft rejection independent of hemodynamic measurements. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(1):52-57
37. Rosenthal DN, Chin C, Nishimura K, Perry SB, Robbins RC, Reitz B, Bernstein D, Feinstein JA. Identifying cardiac transplant rejection in children: diagnostic utility of echocardiography, right heart catheterization and endomyocardial biopsy data. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23(3):323-29
38. Hahn HS, Hoit BD. Doppler echocardiographic assessment of diastolic ventricular function: transmitral and pulmonary venous flow indices. *Progr Pediatr Cardiol*. 1999;10:95-103
39. Gibson D, Francis D. Clinical assessment of left ventricular diastolic function. *Heart*. 2003;89(2):231-238
40. Asher CR, Klein AL. Diastolic heart failure: restrictive cardiomyopathy, constrictive pericarditis, and cardiac tamponade: clinical and echocardiographic evaluation. *Cardiol Rev*. 2002;10(4):218-29

41. Schoroeder JS, Popp RL, Stinson EB. Acute rejection following cardiac transplantation: phonocardiographic and ultrasound observations. *Circulation*. 1969;40:144-64
42. Ciliberto GR, Anjos MC, Gronda E, Bonacina E, Danzi G, Colombo P, Mangiavacchi M, Alberti A, Frigerio M, De Vita C. Significance of pericardial effusion after heart transplantation. *Am J Cardiol*. 1995;76:297-300
43. Cladellas M, Abadal MI, Pons Lladó G, Ballester M, Carreras F, Obrador D, Garcia-Moll, Padro JM, Aris A, Caralps JM. Early transient multivalvar regurgitation detected by pulsed Doppler in cardiac transplantation. *Am J Cardiol*. 1986;58: 1122-24
44. Asante-Korang A, Fickey M, Boucek MM, Boucek RJ. Diastolic performance assessed by tissue Doppler after pediatric heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23(7): 865-72
45. Behera SK, Trang J, Feeley BT, Levi DS, Alejos JC, Drant S. the use of Doppler tissue imaging to predict cellular and antibody mediated rejection in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2008;12:207-14

46. Nakhich RE, Bolman RM, Shumway S, Braunlin E. Correlation of endomyocardial biopsy findings with electrocardiogram voltage in pediatric cardiac allografts. *Clin Transplant*. 1992;6(2):114-8
47. Graceffo MA, O'Rourke RA. Cardiac transplant rejection is associated with a decrease in the high-frequency components of the high-resolution, signal-averaged electrocardiogram. *Am Heart J*. 1996;132(4):820-26
48. Bourge R, Eisen H, Hershenberger R, Keller A, Radovancevic B, Schereier G, Kastern P, Hutten H, Wery S, Mehta N. Noninvasive rejection monitoring of cardiac transplants using high resolution intramyocardial electrograms: initial US multicenter experience. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1998; 21 (11): 2338-44
49. Abramson LP, Pahl E, Huang L, Stellmach V, Rodgers S, Mavroudis C, Backer CL, Arensman RM, Crawford SE. Serum vascular endothelial growth factor as a surveillance marker for cellular rejection in pediatric cardiac transplantation. *Transplantation*. 2002;73(1):153-6
50. Ogawa T, Veinot JP, Davies RA, Haddad H, Smith S, Masters RG, Hendry PJ, Starling R, Bold MK, Ponce A, Kenneth K, Williams K,

- Bold AJ. Neuroendocrine profiling of humans receiving cardiac allografts *J Heart Lung Transplant.* 2005;24(8):1046-54
51. Park MH, Uber PA, Scott RL, Mehra MR. B-type natriuretic peptide in heart transplantation: an important marker of allograft performance. *Heart Fail Rev.* 2003, 8(4);359-63
52. Girnita DM, Brooks MM, Webber SA, Burckart GJ, Ferrel R, Zdanowicz G, DeCroo S, Smith L, Chinnock R, Canter C, Addonizio L, Bernstein D, Kirklin JK, Ranganathan S, Naftel D, Girnita AL, Zeevi A. Genetic polymorphisms impact the risk of acute rejection in pediatric heart transplantation: a multi-institutional study. *Transplantation.* 2008;85(11) 1632-39
53. Kisch B. A significant electron microscopic difference between the atria and the ventricles of the mammalian heart. *Exp Med Surg.* 1963;21:193-221
54. Jamieson JD, Palade GE. Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol.* 1964;23:151-72
55. Wilkins MR, Redondo J, Brown LA. The natriuretic peptide family. *Lancet.* 1997;349:1307

56. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci.* 1981;28:89
57. Flynn TG, de Bold ML, de Bold AJ. The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983;117(3):859-65
58. Maack T. The broad homeostatic role of natriuretic peptides. *Arg Bras Endocrinol Metab.* 2006;50(2):198-207
59. Davidson NC, Struthers AD. Brain natriuretic peptide. *J Hypertens.* 1994;12:329
60. Daniels L, Maisel AS. Natriuretic Peptides. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(25):2357-68
61. Soldin SJ, Soldin OP, Boyajian AJ, Madeleine ST. Pediatric brain natriuretic and N-terminal pro-brain natriuretic peptide reference intervals. *Clin Chim Acta.* 2006;366:304-8
62. Troughton RW, Prior DL, Pereira JJ, Martin M, Fogarty A, Morehead A, Yandle TG, Richards AM, Starling RC, Young JB, Thomas JD, Klein AL. Plasma Brain natriuretic peptide levels in systolic heart

failure: importance of left ventricular diastolic function and right ventricular systolic function. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43(3):416-22

63. Bibbins-Domingo K, Ansari M, Schiller NB, Massie B, Whooley MA. B-natriuretic peptide and Ischemia in patients with stable coronary disease. *Circulation.* 2003;108(24):2987-92
64. Mayer SA, De Lemos JA, Murphy SA, Brooks S, Robert BJ Grayburn PA. Comparison of B-natriuretic peptide levels in patients with heart failure versus without mitral regurgitation. *Am J Cardiol.* 2004;15(8):1002-6
65. Kruger S, Graf J, Kumz D, Stickel T, Hanrath P, Jansens U. Brain natriuretic peptide levels predict functional capacity in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002;21(4):718-22
66. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, Starling RC, Ypung JB, Van Lente F, Francis GS. Plasma Brain natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure. *Circulation.* 2003;2008(24):2964-66
67. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin E, Leip EP, Omland T, Wolf PA, Vasa RS. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Eng J Med.* 2004;350(7):655-63

68. Groenning B, Raymond I, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Pedersen F. Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by Plasma N terminal pro-Brain natriuretic peptide concentration in a large sample of general population. *Heart*. 2004;90(3):297-303
69. Villacorta H, Duarte NM, Carrano A, Mesquita ET, Dohmann HJ, Ferreira FE. The role of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in patients presenting to an emergency department with dyspnea. *Arq Bras Cardiol*. 2002;79(6):564-8
70. Akioka K, Takeuchi K, Yanagi S, Hirota K, Sakamoto K, Yoshimura T, Toda I, Yoshikawa J. Prognostic value of Doppler transmitral flow patterns and cardiac natriuretic peptides in patients with chronic congestive heart failure admitted for episodes of acute decompensation. *Heart Vessels*. 2000;15(2):53-60
71. Westerling A, Wahlander H, Lindstedt G, Lundberg PA, Holmgren D. Clinical signs of heart failure are associated with increased levels of natriuretic peptide types B and A in children with congenital heart defects or cardiomyopathy. *Acta Paediatr*. 2004;93(3):340-45
72. Kunni O, Kamada M, Ohtsuki S, Araki T, Kataoka K, Kageyama M, Nakagawa N, Seino Y. Plasma brain natriuretic peptide and the

evaluation of volume overload in infants and children with congenital heart disease. *Acta Med Okayama*. 2003;57(4);191-97

73. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC Jr. Plasma brain natriuretic peptide concentration; impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(5):976-82
74. Cowley CG, Bradley JD, Shaddy RE. B-type natriuretic peptide levels in congenital heart disease. *Pediatr Cardiol*. 2004; 25(4): 336-40
75. Koch A, Singer H. Normal values of B-type natriuretic peptide in infants, children and adolescents. *Heart*. 2003;89(8);874-78
76. Ationu A, Sorensen K, Whitehead B, Singer D, Burch M, Carter ND. Ventricular expression of brain natriuretic peptide gene following orthotopic cardiac transplantation in children – a three year follow up. *Cardiovasc Res*. 1993;27(12):2135-9
77. Shaw S, Fildes J, Yonan N, Williams SG. Does brain natriuretic peptide interact with the immune system after cardiac transplantation? *Transplantation*. 2007;84(11):1377-80
78. Hervas I, Almenar L, Perez-Pastor JL, Chirivella M, Osa A, Martinez-Doltz P, Bello P, Marti JF, Arnau MA, Vera F, Rueda J, Palencia M,

- Mateo A. Radioimmunoassay of B-type natriuretic peptide (BNP) in heart transplantation: correlation between BNP determination and biopsy grading of rejection. *Nucl Med Commun.* 2003;24(8):925-31
79. Gardner RS, Chong KS, Murday AJ, Morton JJ, McDonagh TA. N-terminal brain natriuretic peptide is predictive of death after cardiac transplantation. *Heart.* 2006;92:121-3
80. Hammerer-Lercher A, Mair J, Antretter H, Ruttmann E, Poeltzl G, Laufer G, Puschendorf B, Hangler H. B-Type Natriuretic Peptide as a Marker of Allograft Rejection After Heart Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005;24(9):1444-47
81. Martinez-Doltz L, Almenara L, Hervas I, Moro J, Agüero J, Sanchez-Lazaro I, Mateo A, Salvador A. Prognostic relationship between two serial determinations of B-type natriuretic peptide and medium-long term events in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2008; 27(7):735-40
82. Iene Claudius MD, Yueh-Tze Lan MD, Chang RK, Wetzel GT, Alejos J. Usefulness of B-type natriuretic peptide as a noninvasive screening tool for cardiac allograft pathology in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol.* 2003;92(11):1368-70

83. Lan YT, Chang RK, Alejos JC, Burch C, Wetzel GT. B-type natriuretic peptide in children after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(5):558-63
84. Rossano JW, Denfield SW, Kim JJ, Price JF, Jefferies JJ, Decker JA, Smith OB, Clunie SK, Towbin JA, Dreyer WJ. B-type natriuretic peptide is a sensitive screening test for acute rejection in pediatric heart transplant patients. *Pediatr Transplant.* 2008;27(6):649-54
85. Pahl E, Naftel DC, Kuhn MA, Shaddy RE, Morrow WR, Canter CE, Kirklin J, for the Pediatric Heart Transplant Study. The impact and outcome of transplant coronary artery disease in a pediatric population: a 9 year multi-institutional study. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24:645-51
86. Nicolas RT, Kort HW, Balzer DT, Trinkaus K, Dent CL, Hirsch R, Canter CE. Surveillance for transplant coronary artery disease in infant, child and adolescent heart transplant recipients: an intravascular ultrasound study. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25(8): 921-27
87. Gao SZ, Schroeder JS, Alderman EL, Hunt SA, Valentine HA, Wiederhold V, Stinson E. Prevalence of accelerated coronary artery disease in heart transplant survivors. Comparison of cyclosporine and azathioprine regimen. *Circulation.* 1989b;80(5):III100-5

88. Fiorelli A, Stolf N, Graziosi P, Bocchi E, Busnardo F, Gaiotto F, Higushi L, Arie S, Jatene AD. Incidência de coronariopatia após o transplante cardíaco ortotópico. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1994; 9: 69-80
89. Braunlin EA, Hunter DW, Canter CE, Gutierrez FR, Ring S, Olivari MT, Titus JL, Spray TL, Bolman M. Coronary artery disease in pediatric cardiac transplant recipients receiving triple-drug immunosuppression. *Circulation.* 1991;84(5):III303-9
90. Bailey LL, Zuppan Z, Chinnock RE, Johnston JK, Razzouk AJ, Gundry SR, and Pediatric Heart Transplant Group, Loma Linda. *Transplant Proc.* 1995;27:1921-5
91. Mulla NF, Johnston JK, Dussen LV, Beeson L, Chinnock RE, Bailey LL, Larsen RL. Late rejection is a predictor of transplant coronary artery disease in children. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:243-50
92. Mehra MR, Uber PA, Potluri S, Ventura HO, Scott RL, Park M. Usefulness of an elevated B-type natriuretic peptide to predict allograft failure, cardiac allograft vasculopathy and survival after heart transplantation. *Am J Cardiol.* 2004;94 454-57

93. Shaddy RE, Fuller TC. The sensitized pediatric heart transplant candidate: Causes, consequences and treatment options. *Pediatr Transplant.* 2005;9(2):208-14
94. Sahn DJ, De Maria A, Kissio J, Weyman A. The committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendation regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation.* 1978;58:1072-83
95. Schiller NB, Shah PK, Crawford M, De Maria A, Devereux R, Feigenbaum H. Recommendations for quantitation of the ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on quantitation of two dimensional echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr.* 1989;2: 358-67
96. Costa Neto, P LO. IN: Estatística, ed Edgard Blucher, 1977, 78
97. Bickel PJ, Doksum KA. IN: Mathematical Statistics:Basic Ideas and Select Topics, ed Holden-Day, 1977, 5 ,153-191
98. Tjang YS, Stenlund H, Tenderich G, Hornik L, Bairaktaris A, Körfer R. Risk factor analysis in pediatric heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2008;27(4):408-15

99. Ross M, Kouretas P, Gamberg P, Miller J, Burge M, Reitz B, Robbins R, Chin C, Bernstein D. Ten- and 20-years survivors of pediatric orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25(3):261-70
100. Vasilescu E R, Ho E K, Torre L, Itescu S, Marboe C, Cortesini R, Suciu-Foca N, Mancini D. Anti-HLA antibodies in heart transplantation. *Transplant Immunol.* 2004;12:177-83
101. Gradek WQ, Damico C, Smith AL, Vega D, Book WM. Routine surveillance endomyocardial biopsy to detect significant rejection late after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2001;20:497-502
102. Almenara L, Arnau MA, Martinez-Dolz L, Hervas I, Osa A, Miró V, Sánchez E, Zorio E, Rueda J, Mateo A, Salvador A. Is there a correlation between brain natriuretic peptide levels and echocardiographic and hemodynamic parameters in heart transplant patients? *Transpl Proc.* 2006;38(8):2534-6
103. Klingenberg R, Koch A, Gleissner C, Schnabel PA, Haass M, Remppis A, Katus HA, Dengler TJ. Determinants of B-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transplant International.* 2005;18(2): 169-76

104. Geiger M, Harake D, Halnon N, Alejos JC, Levi DS. Screening for rejection in symptomatic pediatric heart transplant recipients: The sensitivity of BNP. *Pediatr Transplant*. 2007;16 2008; 12(5): 536-9
105. Pauliks LB, Pietra BA, DeGroff CG, Kirby KS, Knudson OA, Logan L, Boucek MM, Valdes-Cruz LM. Non-invasive detection of acute allograft rejection in children by tissue Doppler imaging: myocardial velocities and myocardial acceleration during isovolumic contraction. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(Suppl 7):S239-S248
106. Tantengco MV, Dodd D, Frist WH, Boucek MM, Boucek RJ. Echocardiographic abnormalities with acute cardiac allograft rejection in children: correlation with endomyocardial biopsy. *J Heart Lung Transplant*. 1993;12(6):203-10
107. Boucek MM, Mathis CM, Boucek RJ, Hodgkin DD, Kanakriyeh MS, McCoumack J, Gundry SR, Bailey LL. Prospective evaluation of echocardiography for primary rejection surveillance after infant heart transplantation: comparison with endomyocardial biopsy. *J Heart Lung Transplant*. 1994;13:66-73
108. Resende MVC. Diagnóstico de rejeição cardíaca celular em pacientes transplantados: utilidade do estudo regional da função

- cardíaca com Doppler tecidual. São Paulo, 2005 (tese Doutorado) - Faculdade Medicina, Universidade de São Paulo, 105p
109. Thorn EM, Fillipi C. Echocardiography in the Cardiac Transplant Recipient. *Heart Fail Clin.* 2007;3(1):51-67
110. Fyfe DA, Ketchum D, Lewis R, Sabatier J, Kanter K, Mahle W, Vincent R. Tissue Doppler imaging detects severely abnormal myocardial velocities that identify children with pre-terminal cardiac graft failure heart after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25(5):510:17
111. Border WL. Color M-mode and Doppler tissue evaluation of diastolic function in children: simultaneous correlation with invasive indices. *J Am Soc Echocardiogr.* 2003;16(9):988-94
112. Vivekananthan K, Kalapura T, Mehra M, Lavie C, Milani R, Scott R, Park M. Usefulness of the combined index of systolic and diastolic myocardial performance to identify cardiac allograft rejection. *Am J Cardiol.* 2002;90(5): 517-20
113. Dandel M, Hummel M, Muller J et al. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. *Circulation.* 2001;104(12):1184-91

114. Fyfe DA, Mahle WT, Kanter KR, Wu G, Vincent RN, Ketchum DL. Reduction of tricuspid annular Doppler tissue velocities in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant.* 2008; 22(5):553-59
115. Sachdeva R, Malik S, Bornemaier RA, Frazier EA, Cleves MA. Tricuspid annular and septal Doppler tissue velocities are reduced in pediatric heart transplant recipients without acute rejection. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(6): 720-4
116. Shaw S, Williams SG. Is brain natriuretic peptide clinically useful after cardiac transplantation? *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25(12):1396-1401
117. Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou PP. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ.* 2005;330:625-32
118. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, Wolf PA, Vasan RS. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med.* 2004; 350(7):655-63

119. Gwechenberger M, Pacher R, Berger R, Zorn G, Moser P, Stanek B, Huelsmann M. Comparison of soluble glycoprotein 130 and cardiac natriuretic peptides as long-term predictors of heart failure progression. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(12): 2190-95
120. Price J, Thomas AK, Gremier M, Eidem BW, Smith EO, Denfield SW, Towbin JA, Dreyer WJ. B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation*. 2006;5: 1063-69
121. Masson S, Latini R, Anad IS, Vago T, Angelici L, Barlera S, Missov ED, Clerico A, Tognoni G, Cohn JN. Direct Comparison of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in a large population of patients with chronic and symptomatic heart failure: The Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) data. *Clin Chem*. 2006;52(8):1528-38
122. Masters RG, Davies RA, Veinot JP, Hendry PJ, Smith SJ, de Bold AJ. Discoordinate modulation of natriuretic peptides during acute cardiac allograft rejection in humans. *Circulation*. 1999; 100: 287-91
123. O'Neill JO, McRae AT, Troughton RW, Ng K, Taylor DO, Yamani MH, Young JB, Starling RC. Brain natriuretic peptides do not correlate with acute cellular rejection in De Novo orthotopic heart transplant recipients. *J Heart Lung Transpl*. 2005;24(4): 416-20

124. Kirchhoff WCh, Gradaus R, Stypmann J, Deng MC, Tian TD, Scheld HH, Breithard G, Brisse B. Vasoactive peptides during long-term follow-up of patients after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004; 23(3):284-8
125. Koch A, Singer H. Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children and adolescents. *Heart.* 2003; 89-875-878
126. Amiram N, Nasser N. clinical value of NT-ProBNP and BNP in Pediatric Cardiology. *J Card Fail.* 2005; 11(5): S76-80
127. Azeka E. São Paulo, 2005 (tese Livre Docência) – Doença coronariana após transplante cardíaco pediátrico. Faculdade Medicina, Universidade de São Paulo, 105p
128. Tsuji H, Nishino N, Kimura Y, Yamada K, Nukui M, Yamamoto S, Iwasaka T, Takahashi H. Haemoglobin levels influence plasma brain natriuretic peptide concentration. *Acta Cardiol.* 2004;59(5):527-31
129. Klingenberg R, Koch A, Gleissner C, Schnabel PA, Haass M, Remppis A, Katus HÁ, Dengler TJ. Determinants of B-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transp Int.* 2005; 18(2): 169-76

130. Lee CK, Christensen LL, Magee JC, Ojo AO, Harmon WE, Bridges ND. Pre-transplant risk factors for chronic renal dysfunction after pediatric heart transplantation: a 10-year national cohort study. *J Heart Lung Transplant.* 2007; 26(5):458-65

APÊNDICE

Tabela 1. Características das 33 crianças estudadas

N	Sexo*	Raça**	Tipagem*** sanguínea	Painel imunológico(%)
1	0	1	1	0
2	0	1	1	10
3	1	2	1	5
4	0	1	1	0
5	1	1	4	0
6	0	1	1	3
7	0	1	1	7
8	1	1	1	0
9	1	1	2	0
10	0	1	3	0
11	0	1	2	7
12	1	1	2	0
13	0	1	4	0
14	1	1	4	0
15	1	1	3	4
16	0	1	1	4
17	1	2	1	0
18	1	2	2	0
19	1	1	3	0
20	1	2	1	0
21	1	1	2	0
22	1	1	2	0
23	0	1	1	0
24	1	1	2	0
25	0	1	2	0
26	0	1	1	4
27	1	1		0
28	0	1	2	0
29	0	2	2	0
30	0	1	1	
31	1	1	1	7
32	1	1	2	0
33	1	1		14

*Sexo: 0= masculino;1= feminino;

** Raça: 1= branco;2=não branco

*** Tipagem sanguínea: 1= A;2=B;3=AB;4=O

Tabela 2. Características demográficas

N	Data de nascimento	Data do transplante	Data do BNP	Idade do receptor	Tempo de transplante
1	16/08/90	17/2/93	22/09/05	15,11	12,60
2	05/05/88	2/9/93	27/07/05	17,24	11,91
3	17/03/93	3/3/95	19/09/05	12,52	10,56
4	29/06/93	23/12/95	10/08/05	12,12	9,64
5	25/12/89	13/5/99	06/06/05	15,46	6,07
6	13/12/86	21/9/99	14/06/05	18,52	5,73
7	07/07/97	1/10/99	27/06/05	7,98	5,74
8	20/12/98	30/11/99	03/02/06	7,13	6,18
9	04/12/99	1/5/00	25/08/05	5,73	5,32
10	22/12/98	9/11/01	07/02/06	7,13	4,25
11	16/12/98	8/10/01	23/01/06	7,11	4,30
12	18/03/98	8/12/01	03/01/06	7,80	4,07
13	31/12/93	6/8/02	17/01/06	12,05	3,45
14	08/09/90	01/11/02	06/09/05	15,01	2,85
15	12/09/01	23/11/02	05/01/06	4,32	3,12
16	22/07/89	10/05/03	18/10/05	16,25	2,44
17	26/07/00	24/06/03	10/01/06	5,46	2,55
18	10/06/02	06/07/03	23/09/05	3,29	2,22
19	16/10/98	01/12/04	09/01/06	7,24	1,11
20	14/07/92	04/02/05	21/11/05	13,36	0,79
21	31/08/98	05/03/05	27/10/05	7,16	0,65
22	23/08/00	13/01/05	13/02/06	5,48	1,08
23	26/04/98	01/01/04	24/03/06	15,69	2,75
24	20/08/02	29/07/03	17/04/06	0,92	3,17
25	23/07/93	05/03/95	28/02/06	1,62	11,58
26	27/08/96	20/10/99	26/04/06	3,15	6,95
27	28/12/99	15/02/04	21/11/05	4,14	2,67
28	14/12/98	25/07/02	04/05/06	3,61	4,18
29	23/05/90	13/08/95	8/05/05	5,23	11,14
30	08/06/94	26/03/98	16/05/06	3,80	8,52
31	13/04/02	17/05/96	19/05/05	4,10	10,38
32	16/04/96	02/02/01	25/05/06	4,80	5,66
33	15/08/96	01/03/05	10/08/06	8,55	1,58

Tabela 3. Medicação imunossupressora das 33 crianças no momento da coleta do BNP:

N	Tacrolimus	Ciclosporina	Azatioprina	Micofenolato mofetil	Prednisona
1	1	0	0	1	0
2	0	1	0	1	0
3	1	0	0	1	0
4	1	0	0	1	0
5	1	0	0	1	0
6	1	0	0	1	0
7	1	0	0	1	0
8	1	0	0	1	0
9	0	1	1	0	0
10	1	0	1	0	1
11	0	1	1	0	0
12	1	0	0	0	0
13	1	0	0	1	0
14	1	0	0	1	1
15	1	0	1	0	0
16	1	0	0	1	0
17	1	0	0	1	0
18	0	1	0	1	0
19	1	0	0	1	0
20	1	0	0	1	0
21	1	0	1	0	0
22	1	0	0	1	0
23	1	0	0	1	0
24	1	0	1	0	0
25	0	1	0	0	0
26	0	1	1	0	0
27	1	0	0	1	0
28	1	0	1	0	0
29	1	0	0	1	0
30	0	1	0	1	0
31	1	0	1	0	0
32	1	0	0	1	0
33	1	0	0	1	0

N= paciente; 0=não;1=sim

Tabela 4 .Número total de rejeições e resultado da biópsia endomiocárdica no momento da coletado BNP

N	Número total de rejeições	Resultado das biópsias*
1	4	0 e 0
2	4	1A e 0
3	3	1A e 1A
4	4	2 e 0
5	3	0
6	5	1A
7	2	0 e 0
8	3	0 e 1B
9	2	0 e 0
10	5	2 e 0 (com rejeição humoral)
11	2	3A
12	2	1A
13	4	2
14	4	3A e 0
15	2	1A
16	3	0 e 0
17	4	1A
18	1	1A e 1A
19	3	2
20	4	3A , 1A e 0
21	3	1A, 0,0 e 0
22	1	1A
23	2	0
24	4	0
25	2	0
26	5	1A
27	3	0
28	4	0
29	1	0
30	5	0
31	2	0
32	5	2 e 0
33	0	0