

Pesquisa Multidisciplinar em

CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

Tatiana Tavares da Silva

Cardiomiopatias e Canalopatias Hereditárias

Dr. Glauber Monteiro Dias

Avaliação da Função Endotelial no Diabetes

Dr. Eduardo Tibiriçá



Mestrado
Profissional em
Ciências
Cardiovasculares

REVISTA
PESQUISA MULTIDISCIPLINAR
EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

PERIODICIDADE

Bimestral / ANO 2 - VOLUME 1

ISSN 2594-8024

CORPO EDITORIAL:
EDITORES ASSOCIADOS

Editor chefe

Eduardo Tibiriçá

Editores Associados Internos

Andrea Rocha De Lorenzo

Annie Bello

Cristiane da Cruz Lamas

Luiz Fernando Rodrigues Junior

Marisa Santos

Tereza Cristina Felipe Guimarães

Editores Associados Externos

André Volschan (Pró Cardíaco)

Denizar Vianna Araújo (UERJ)

Gláucia Maria Moraes de Oliveira(UFRJ)

Liana Amorim Trotte (UFRJ)

Mario Fritsch Toros Neves (UERJ)

EDITORIAL

É com imenso prazer que iniciamos uma nova etapa de publicação da revista do Mestrado em Ciências Cardiovasculares (MCC) do Instituto Nacional de Cardiologia (INC), que a partir do mês de março será intitulada de “Pesquisa Multidisciplinar em Ciências Cardiovasculares”.

A revista é uma publicação eletrônica de periodicidade bimensal, de acesso aberto, hospedada no sítio dos mestrados profissionais do INC (<http://www.mestradoinc.com.br>).

A revista aceitará para publicação artigos relativos às Ciências Cardiovasculares, aumentando a divulgação dessa produção junto ao corpo clínico e multiprofissional do INC e de outras instituições e indivíduos, e estimulando o corpo discente, principalmente, a atuar ativamente na produção do conhecimento.

Os artigos deverão ser originais, no formato de short communication, sendo também aceitos artigos de atualização, na forma de mini-revisão, resumos de dissertações apresentadas, protocolos ou manuais, relatos de casos, avaliações por imagens, condutas ou rotinas médicas.

Edições especiais sobre um tema específico ou eventos científicos poderão ser promovidas, a critério do corpo editorial.

Eduardo Tibiriçá

Editor Chefe



SUMÁRIO

3

Editorial

5

Diagnóstico Molecular
de Cardiomiopatas e
Canalopatas Hereditárias

13

Avaliação da
Função Endotelial
no Diaabetes



Diagnóstico Molecular de Cardiomiopatias e Canalopatias Hereditárias

Glauber Monteiro Dias

Biólogo, PhD

Professor do Programa de Pós-graduação-Mestrado

Profissional em Ciências Cardiovasculares do Instituto Nacional de Cardiologia – Ministério da Saúde

O Centro de Tecnologia Celular (CTC), através do Laboratório de Biologia e Diagnósticos Moleculares, oferece o diagnóstico molecular de cardiomiopatias e canalopatias para os pacientes do Instituto Nacional de Cardiologia, através de painéis para NGS e sequenciamento direto de DNA pelo método de Sanger.

O LBDMol dispõe das últimas tecnologias de sequenciamento, painéis de genes otimizados e validados, além de uma equipe altamente qualificada.

Nossos resultados procuram relacionar o genótipo com o fenótipo do paciente para uma melhor compreensão do clínico.



CARDIOMIOPATIAS E CANALOPATIAS HEREDITÁRIAS

As cardiomiopatias são doenças do músculo cardíaco que, frequentemente, evoluem para insuficiência cardíaca (IC), sendo responsáveis por elevadas taxas de morbidade e mortalidade.

Uma porcentagem significativa das cardiomiopatias tem origem genética, com característica familiar (hereditária), mas também podem ser adquiridas/não-hereditárias.

Os genes, associados a essas doenças, quando sofrem mutações, são responsáveis pelas manifestações clínicas, comuns a cada cardiomiopatia específica, porém, as características fenotípicas, incluindo idade da manifestação, gravidade e desfecho, são variáveis por razões ainda desconhecidas.

Genes modificadores, influências ambientais, diversidade de variantes genéticas e o efeito de múltiplas variantes poderiam explicar a grande heterogeneidade clínica

entre indivíduos de uma mesma família ou de famílias diferentes.

Atualmente as cardiomiopatias são classificadas formalmente em cinco categorias:

- 1. Cardiomiopatia hipertrófica (CMH);*
- 2. Cardiomiopatia dilatada (CMD);*
- 3. Cardiomiopatia restritiva (CMR);*
- 4. Cardiomiopatia não compactada do ventrículo esquerdo (CNCVE) e*
- 5. Cardiomiopatia ventricular arritmogênia (CVA), antes referida com displasia/cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (D/CAVD).*

As canalopatias hereditárias são doenças causadas por mutações genéticas em genes de canais iônicos cardíacos.

Essas enfermidades levam a um maior risco de arritmias cardíacas e, frequentemente, à morte súbita, sobretudo, em jovens aparentemente saudáveis.

As principais canalopatias são a síndrome do QT longo (SQTL); a taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC); a síndrome de Brugada (SBr) e a síndrome do QT curto (SQTC).

Nas últimas duas décadas, a descoberta das causas genéticas dessas doenças teve um grande aumento, devido à evolução das tecnologias de sequenciamento de DNA, (NGS, next generation sequencing).

Com isso, novas mutações e novos genes são descobertos a todo instante, tornando necessário o diálogo permanente entre o laboratório e a clínica, para o aprimoramento dos testes diagnósticos, interpretações mais precisas dos resultados e melhor entendimento das causas dessas patologias.

Assim, o emprego dessas novas ferramentas trará benefícios concretos para os pacientes e famílias com essas doenças potencialmente letais.

1

PAINEL GERAL DE CARDIOMIOPATIAS

[52 genes]

METODOLOGIA:

Sequenciamento de Nova Geração (NGS)

COBERTURA DO PAINEL: > 97%

DOENÇAS ENVOLVIDAS:

Neste painel, estão contidos 52 genes que cobrem todos os tipos de cardiomiopatias hereditárias (CMH, CMD, CMR, CNCVE, CVA) e algumas doenças de depósito, que podem ter, como manifestação principal, uma cardiomiopatia. Alguns genes estão relacionados a mais de uma patologia.

INDICAÇÃO DO ESTUDO GENÉTICO

Quadros clínicos, cuja principal manifestação é uma cardiomiopatia, nos quais o fenótipo não é totalmente claro ou não existem dúvidas a respeito do diagnóstico.

Também, deverá ser considerado quando existe a sobreposição de fenótipos no paciente ou na família, o que não é incomum na prática clínica.

É útil porque:

- O estudo genético permite confirmar a suspeita clínica e, ao mesmo tempo, é uma importante ferramenta para o diagnóstico diferencial da doença.

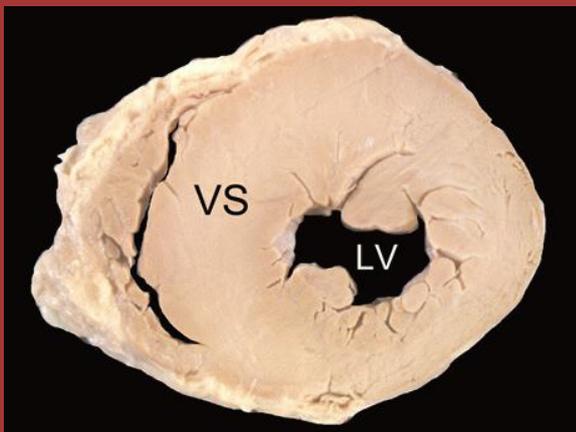
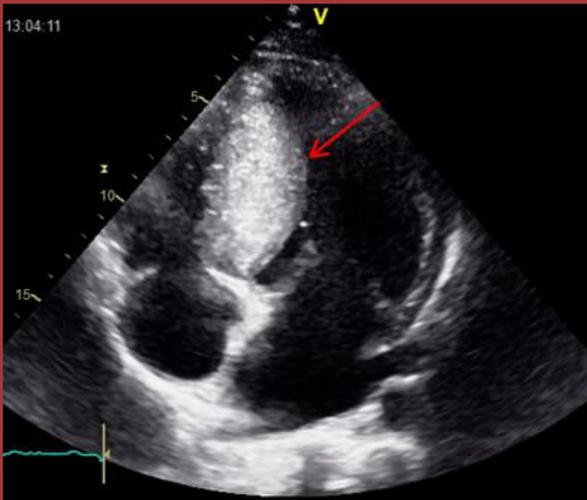
- O diagnóstico, adequado e correto, da doença permite realizar a estratificação de risco.

- O estudo pode ser utilizado com valor preditivo quando uma mutação patogênica é detectada. É importante para o aconselhamento genético familiar, pois permite detectar portadores assintomáticos em risco.

DOENÇAS E GENES COBERTOS PELO PAINEL

CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA

[26 GENES]

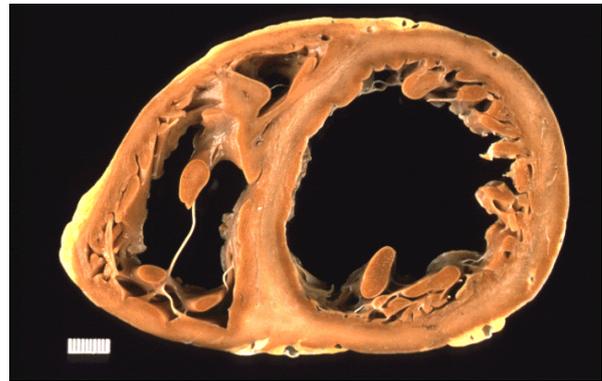


O Painel Geral da Cardiomiopatia inclui os principais genes sarcoméricos e não sarcoméricos associados à cardiomiopatia hipertrófica, além de genes associados a doenças, cuja apresentação clínica pode ser indistinta da CMH clássica (fenocópias).

ACTC1, ACTN2, CALR3, CAV3, CSRP3, DES, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, MYPN, NEXN, PLN, PRKAG2, RPS7, SLC25A4, TCAP, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTR, VCL.

CARDIOMIOPATIA DILATADA

[43 GENES]



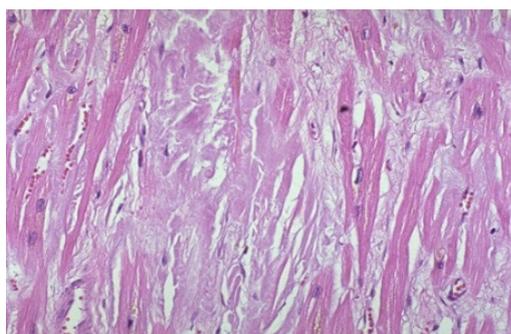
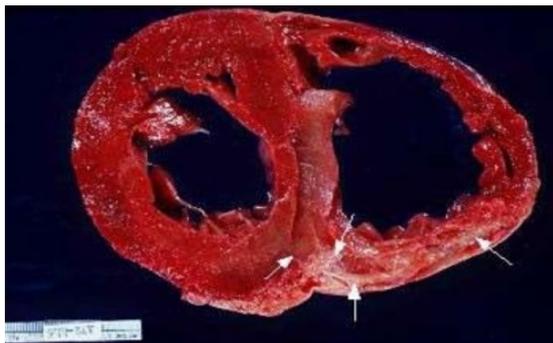
O Painel conta com 43 genes relacionados à CMD.

Esse painel é indicado como a primeira abordagem diagnóstica diante da suspeita clínica de CMD, familiar ou idiopática. Inclui genes que, também, podem estar associados a transtornos de condução cardíaca e/ou alterações musculares, seja na fase clínica, seja na subclínica.

Nele, estão incluídos os genes prioritários, recomendados nos manuais de prática clínica e claramente relacionados com essa doença, além de genes secundários, esporadicamente associados à enfermidade.

ABCC9, ACTC1, ACTN2, BAG3, CAV3, CRYAB, CSRP3, DES, DMD, DSC2, DSG2, DSP, EYA4, FKTN, GATAD1, JUP, LAMA4, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYPN, NEXN, PKP2, PLN, PSEN1, PSEN2, RBM20, SCN5A, SDHA, SGCD, TAZ, TCAP, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, TTR, VCL.

CARDIOMIOPATIA RESTRITIVA [15 GENES]

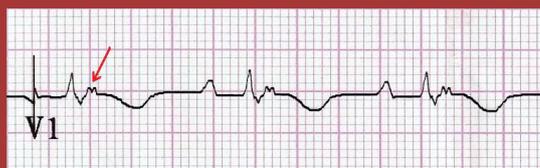
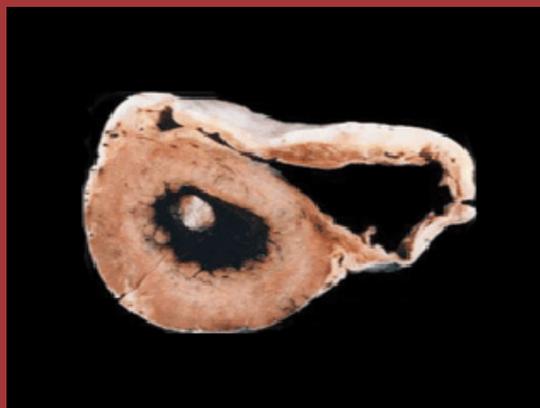


Neste painel estão inclusos os genes prioritários da CMR e genes secundários esporadicamente associados à enfermidade.

Alguns genes, também, foram associados outras cardiomiopatias patologia.

ACTC1, BAG3, CRYAB, DES, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, MYPN, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, TTR

CARDIOMIOPATIA RESTRITIVA [13 GENES]



A análise destes genes é indicada como a primeira abordagem diagnóstica, diante da suspeita clínica de cardiomiopatia arritmogênica (em pacientes com diagnóstico possível ou borderline).

Também, deveria ser solicitado em casos com diagnóstico estabelecido da doença (no caso de cumprir os critérios diagnósticos) para facilitar o estudo familiar.

O painel inclui todos os genes desmossomais, assim como, outros genes prioritários e secundários associados à doença.

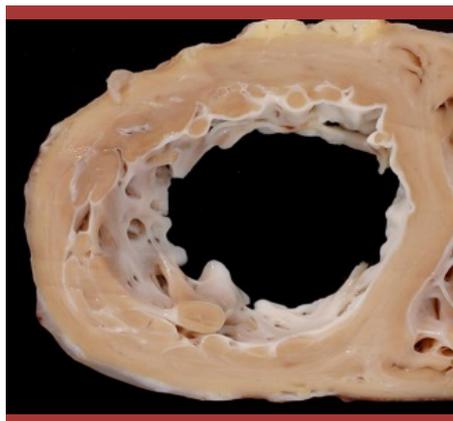
DES, DSC2, DSG2, DSP, JUP, LDB3, LMNA, PKP2, PLN, SCN5A, TGFB3, TMEM43, TTN

CARDIOMIOPATIA NÃO-COMPACTADA DO VENTRÍCULO ESQUERDO [20 GENES]

Os genes prioritários relacionados com a CNCVE estão no Painel Geral de Cardiomiopatias, além de genes secundários esporadicamente associados à enfermidade.

Este painel é indicado como a primeira abordagem diagnóstica para pacientes com fenótipo claro de CNCVE.

ACTC1, BAG3, DMD, DSP, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, PLN, SCN5A, TAZ, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, VCL, TTN



2 PAINEL DE DOENÇA DE FABRY [1 gene]

MÉTODO:

Amplificação e sequenciamento por Sanger do gene GLA

Essa é a escolha de estudo diante da suspeita clínica da doença de Fabry.

É realizado pela amplificação do gene GLA por PCR e sequenciamento pelo método de Sanger. Tem capacidade de detectar variantes genéticas (indels ou missense) em todos os éxons e regiões codificantes, incluindo regiões de fronteira intron-éxon.

3 PAINEL DE SÍNDROME DO QT LONGO [3 genes]



MÉTODO:

Amplificação e sequenciamento por Sanger das regiões codificantes dos genes, incluindo regiões de fronteira intron-éxon.

Este painel inclui os 3 genes, nos quais, se identifica a maior parte das mutações responsáveis pela síndrome do QT Longo com associação clínica comprovada.

Indicado quando se tem o diagnóstico eletrocardiográfico da síndrome do QT Longo tipo I (SQTL-I), tipo II (SQTL-II) ou tipo III (SQTL-III).

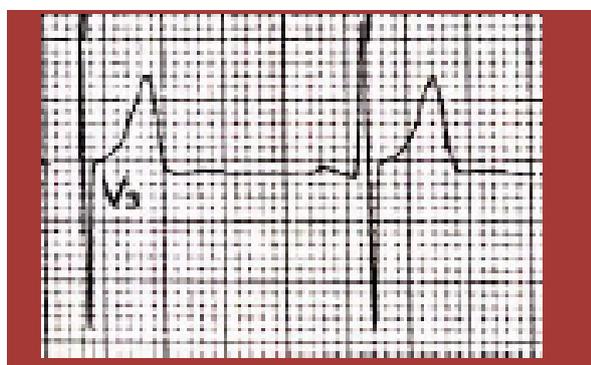
KCNH2, KCNQ1, SCN5A

- Síndrome de Andersen-Tawil

No caso de suspeita da síndrome de Andersen –Tawil (SQTL-7), é indicada a análise do gene KCNJ2.

4 PAINEL DE SÍNDROME DO QT CURTO

[3 genes]



MÉTODO:

Amplificação e sequenciamento por Sanger das regiões codificantes dos genes, incluindo regiões de fronteira intron-éxon.

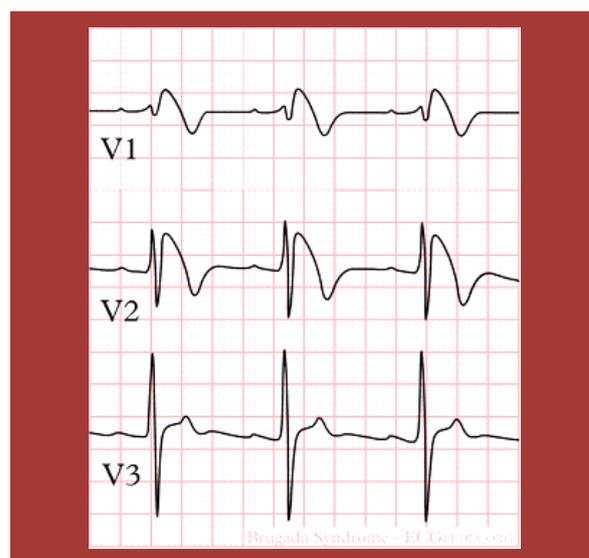
O painel inclui os genes, cuja associação a esse fenótipo, foram demonstrados com evidências, obtidas nas publicações mais relevantes até o momento.

Indicado quando se tem o diagnóstico eletrocardiográfico da síndrome do QT Curto.

KCNH2, KCNJ2, KCNQ1

5 PAINEL DE SÍNDROME DE BRUGADA

[1 gene]



MÉTODO:

Amplificação e sequenciamento por Sanger das regiões codificantes do gene SCN5A, incluindo regiões de fronteira intron-éxon.

O SCN5A é o principal de gene associado à síndrome de Brugada (SBr), que corresponde aproximadamente a 30% dos casos.

Recomendado para qualquer paciente, no qual, foi estabelecido um índice clínico de suspeito de SBr, baseado na história clínica e familiar, assim como, no fenótipo eletrocardiográfico (ECG 12-lead de repouso e/ou teste de desafio provocado por drogas).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Towbin JA. Inherited Cardiomyopathies. *Circulation Journal : official journal of the japanese circulation society*. 2014; 78:2347-2356.
- Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, Camm AJ, Ellinor PT, Gollob M, Hamilton R, Hershberger RE, Judge DP, Le Marec H, McKenna WJ, Schulze-Bahr E, Semsarian C, Towbin JA, Watkins H, Wilde A, Wolpert C, Zipes DP. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) *Heart Rhythm*. 2011; 8:1308-1339.
- Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB, American Heart Association, Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee, Quality of care and outcomes research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups, Council on epidemiology and prevention. Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006; 113:1807-16.
- Teekakirikul P, Kelly MA, Rehm HL, Lakdawala NK, Funke BH. Inherited Cardiomyopathies: Molecular Genetics and Clinical Genetic Testing in the Postgenomic Era. *J Mol Diagn*. 2013; 15:158-170.
- Rafael JF, Cruz FDS Filho, Carvalho ACC, Gottlieb I, Cazelli JG, Siciliano AP, Dias GM. Myosin-binding Protein C Compound Heterozygous Variant Effect on the Phenotypic Expression of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol*. 2017; 108:354-360.

ENVIO DE AMOSTRAS

Sangue periférico: 2 tubos EDTA (tampa roxa).

No caso de bebês e recém-nascidos, pode-se colher 1 tubo com 2-3 mL.

A amostra deve ser refrigerada a 4-8°C para transportes longos (>2h).

Nunca congelar!

Todas as amostras devem vir acompanhadas do formulário de solicitação preenchido pelo médico e do TCLE assinado pelo paciente ou responsável. Retirar uma cópia do formulário no CTC no 5º andar ou solicitar por e-mail:

lbdmol.ctc@inc.saude.gov.br

O prazo para entrega do resultado é de até 3 meses.

O laudo será enviado para o médico solicitante.

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL NO DIABETES

*Dr. Eduardo Tibiriçá
Núcleo de Investigação Cardiovascular
Coordenação de Ensino e Pesquisa
Instituto Nacional de Cardiologia*

Os fatores de risco clássicos para o desenvolvimento de complicações crônicas do diabetes incluem o controle glicêmico, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a dislipidemia (Chou, et al., 2016, Gaede, et al., 2008)(consultar tabela 1).

Entretanto, paralelamente a estes fatores de risco, existe uma suscetibilidade individual ao desenvolvimento de complicações, e fatores genéticos têm sido estudados como possíveis contribuintes.



INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo e a disfunção endotelial são considerados eventos precoces no desenvolvimento de complicações, tanto micro quanto macrovasculares, e poderiam ser considerados o denominador comum através do qual hiperglicemia, HAS e dislipidemia atuam (Brownlee, 2001). A possível influência da memória glicêmica e da memória do estresse oxidativo, na evolução para as complicações crônicas, foi inicialmente discutida no EDIC (Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications), o estudo que sucedeu o DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial). Neste estudo, os pacientes tratados intensivamente durante o DCCT apresentaram, após 10 anos, diminuição da incidência das complicações crônicas micro e macrovasculares (Nathan, et al., 2005).

Sabemos, hoje, que o endotélio é um

tecido dinâmico que possui ações fisiológicas e biológicas que são críticas para homeostase vascular sistêmica. Estas ações são relacionadas à sua capacidade de secretar uma infinidade de mediadores químicos, de interagir com as células musculares lisas vasculares (CMLV) e com elementos presentes na circulação, como as células da linhagem hematopoiética (Calles-Escandon and Cipolla, 2001, Tousoulis, et al., 2013).

As principais funções endoteliais são:

1. manutenção da fluidez sanguínea;
2. controle do tônus vascular através da secreção de substâncias vasoativas;
3. regulação da proliferação das CMLV;
4. participação na reação inflamatória local;
5. hemostasia sanguínea.

Todas estas ações contribuem para manter a integridade de barreira entre o meio extravascular e intravascular.

Dentro deste contexto, os vários fatores implicados na patogenia das vasculopatias como fumo, HAS e dislipidemia apresentam em comum a presença de alterações na fisiologia endotelial (Calles-Escandon and Cipolla, 2001).

No diabetes mellitus, principalmente no paciente com diabetes do tipo 2 (DM2), muitas vezes, existe a interação complexa de diferentes mecanismos que alteram o endotélio devido a presença concomitante de hiperglicemia, HAS, dislipidemia e resistência insulínica (Eliasson, et al., 2005).

RESISTÊNCIA INSULÍNICA E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A disfunção endotelial é uma das principais características da aterosclerose, sendo a diminuição na produção de óxido nítrico (NO) uma das suas etapas iniciais (Calles-Escandon and Cipolla, 2001).

Na resistência insulínica, ocorre uma diminuição da produção de NO por alteração de uma das vias da cascata de sinalização da insulina, resultando em diminuição da atividade da enzima NO sintase e, conseqüentemente, na produção de NO.

Entretanto, outra via relacionada à síntese de fatores de crescimento permanece

ativa, resultando em proliferação das células musculares lisas o que contribuirá para patogênese da aterosclerose (Calles-Escandon and Cipolla, 2001).

O óxido nítrico, além de ter uma ação vasodilatadora, tem um efeito protetor do endotélio por inibir a agregação plaquetária e diminuir a proliferação das células musculares lisas. Desta forma, a diminuição da produção de NO ou sua inativação terão um efeito pró-aterogênico (Tousoulis, et al., 2013).

Outro mecanismo, associado ao processo de aterosclerose, é o acúmulo de LDL colesterol oxidada (Chisolm and Steinberg, 2000).

A LDL pequena e densa ao persistir por mais tempo no sub-endotélio é mais facilmente oxidada e irá induzir a uma ativação das células endoteliais, para sintetizar proteínas que irão atrair os monócitos para o espaço subendotelial, fazendo com que estas células fiquem aderidas ao local.

Este processo também é precoce e resulta na diferenciação dos monócitos em macrófagos residuais que, ao expressarem os receptores, como o CD36, iniciam a captação da LDL oxidada, dando origem as células espumosas.

As células espumosas são consideradas como lesões histopatológicas indicadoras da aterosclerose (Bonetti, et al., 2003).

Outros fatores participantes deste processo são os fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF) que induzem a proliferação endotelial a permeabilidade vascular e a proliferação das células musculares lisas, que migram da parede arterial para o sítio da lesão.

Estas células têm entre outras funções produzir proteínas da matriz com o objetivo de reparo do vaso e formação da cápsula fibrosa.

Atualmente, vários fatores plasmáticos ou urinários são considerados como marcadores de disfunção endotelial e podem ser utilizados na prática diária como preditores de doença cardiovascular.

São citados na literatura: o fator de von Willebrand; o inibidor do ativador do plasminogenio 1 (PAI-1); a albuminúria; a endotelina 1; a proteína C reativa; a homocisteína e vários outros associados à coagulação, fibrinólise, inflamação e regulação do tônus vascular (Tousoulis, et al., 2013).

Entretanto, estudos prospectivos são necessários para estabelecer a vantagem de utilizarmos também estes fatores na estratificação do risco cardiovascular, em conjunto com os fatores clássicos, já estabelecidos pelo estudo de Framingham (Dawber, et al., 1951, Pearson, 2002, Wang, et al., 2006).

Sabemos, hoje, que a fisiopatologia da aterosclerose é multifatorial, envolvendo fatores genéticos ambientais que, no paciente diabético, seriam mais agressivos pela interação com o meio diabetogênico.

No paciente diabético, a aterosclerose assume algumas características como: severidade, precocidade, rápida evolução e ser sistêmica.

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL EM PACIENTES DIABÉTICOS

Devido às múltiplas funções da célula endotelial, não existe uma definição singular de disfunção endotelial (Bonetti, et al., 2003).

Diferentes abordagens da literatura pertinente consideram, como alterações funcionais, a diminuição da vasodilatação induzida por substâncias ou por manobras que estimulem a secreção de NO pelo endotélio e mudanças na quantidade de mediadores químicos produzidos pela célula endotelial.

Neste contexto, a disfunção endotelial tem sido definida tipicamente como uma redução na resposta vasodilatadora à acetilcolina (ou a metacolina) ou à hiperemia reativa pós-oclusiva, as quais provocam liberação de NO pelo endotélio (Widlansky, et al., 2003).

Além disso, a disfunção endotelial sistêmica tem sido considerada como um marcador periférico de disfunção endotelial coronariana e também, eventualmente, utilizada como desfecho substitutivo em estudos clínicos em doença cardiovascular e diabetes (Anderson, et al., 1995, Cohn, et al., 2004).

O método “gold-standard”, de avaliação do fluxo sanguíneo in vivo, é a mensuração por cateter intravascular do fluxo coronariano por angiografia e por Doppler, ambos invasivos e dispendiosos, acarretando riscos para o paciente, tendo sido realizado apenas em poucos centros de pesquisa (Bonetti, et al., 2003).

De maneira geral, o custo, a subjetividade, a alta variabilidade e a ausência de validação têm reduzido a confiabilidade de outros métodos funcionais como o ultrassom, a pletismografia e a tomografia com emissão de pósitrons.

Acrescenta-se também o fato destes métodos só avaliarem a função endotelial de grandes vasos.

Neste contexto, é importante lembrar que a hiperglicemia tem maior correlação com alterações da microcirculação sistêmica.

PLETISMOGRAFIA DE OCLUSÃO VENOSA

Permite a mensuração de alterações do fluxo sanguíneo muscular do antebraço em resposta a manobras fisiológicas ou farmacológicas, representando uma avaliação funcional dos vasos de resistência (macro e microcirculação) (Yvonne-Tee, et al., 2006), além de constituir uma técnica, em princípio, não invasiva.

As principais vantagens consistem no baixo custo da aparelhagem e na possibilidade de avaliação da função endotelial através da infusão intra-arterial (artéria radial) de acetilcolina ou metacolina (Yvonne-Tee, et al., 2006).

A técnica foi concebida para utilização isolada, sendo que a variabilidade dos resultados, ao longo do tempo, dificulta sua utilização em estudos clínicos com intervenção a longo prazo.

TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS

Permite a avaliação quantitativa do fluxo sanguíneo do miocárdio assim como da sua atividade metabólica (Bengel, et al., 2009).

O cálculo da reserva de fluxo coronariano pode ser obtido tanto através do fluxo basal, quanto durante resposta hiperêmica induzida pela administração intravenosa de dipiridamol.

A técnica é não invasiva e tem como vantagem a possibilidade de ser utilizada diversas vezes no mesmo paciente. No entanto, o custo da aparelhagem é elevado e, portanto, poucos serviços dispõem do mesmo.

ULTRASSOM DE ALTA RESOLUÇÃO (Vasodilatação da artéria braquial mediada pelo fluxo)

Esta técnica também é não invasiva e permite a repetição do teste, ao longo do tempo, possibilitando o estudo da história natural da doença assim como dos efeitos de intervenções terapêuticas na disfunção endotelial (Al-Qaisi, et al., 2008).

Além disso, a resposta de vasodilatação, mediada pelo fluxo na artéria braquial, está correlacionada com a função endotelial da circulação coronariana (Anderson, et al., 1995).

Utiliza-se a hiperemia reativa pós-oclusiva, que consiste na indução de isquemia no antebraço e na avaliação da resposta vasodilatadora pós-isquêmica pela medida do diâmetro da artéria braquial através de ultrassom.

A isquemia é induzida com o uso de manguito de pressão arterial inflado pelo menos 30mmHg acima da pressão sistólica do paciente, durante 3 - 5 minutos, sendo que a resposta vasodilatadora máxima ocorre, aproximadamente, 30 - 60 segundos após a liberação da oclusão arterial.

O aumento abrupto do fluxo sanguíneo induz aumento do shear stress (forças de cisalhamento) que resulta em liberação de óxido nítrico.

Portanto, a intensidade da vasodilatação está diretamente relacionada com a função endotelial vascular (Al-Qaisi, et al., 2008).

Ao contrário da pletismografia, esta técnica avalia essencialmente a função endotelial da macrocirculação. Além disso, a técnica se caracteriza por ser demasiado operador-dependente e de execução laboriosa.

FLUXOMETRIA LASER-DOPPLER

Com relação às técnicas de ultrassom, a fluxometria laser-Doppler tem como principais vantagens ser de utilização simples e possibilitar a obtenção de resultados imediatos, além de ser razoavelmente independente do operador (Cracowski and Roustit, 2016, Turner, et al., 2008).

No entanto, a variabilidade inter e intra-indivíduo se situa em torno de 20 - 30% (Turner, et al., 2008).

Além disso, indica-se avaliação da função endotelial pela utilização simultânea de testes farmacológicos (acetilcolina) e fisiológicos (hiperemias térmica e pós-oclusiva), já que os resultados entre esses diferentes estímulos vasodilatadores podem ser conflitantes em pacientes diabéticos (Gomes, et al., 2008).

A avaliação da perfusão tecidual é feita através do aumento de fluxo sanguíneo cutâneo resultante de manobras, tais como: a hiperemia reativa e aquecimento local.

Além disso, existe a possibilidade de administração de vasodilatadores dependentes (acetilcolina) e independentes (nitroprussiato de sódio) do endotélio, através de aparelhos de micro-iontoforese acoplados ao transdutor do laser-Doppler (Cracowski and Roustit, 2016).

Esta técnica avalia essencialmente a função endotelial microvascular sistêmica e está indicada para o diagnóstico de microangiopatia diabética, sendo bastante útil na avaliação de intervenções terapêuticas (Turner, et al., 2008)

FLUXOMETRIA LASER-SPECKLE POR CONTRASTE DE IMAGEM (LSCI)

Consiste em nova tecnologia de avaliação da microcirculação sistêmica baseada na utilização de luz laser.



FIGURA 1: Sistema de fluxometria laser speckle cutâneo acoplado à micro-iontoforese de substâncias vasoativas. Na técnica de iontoforese, uma corrente elétrica de baixa intensidade carrega íons de substâncias vasodilatadoras através da pele íntegra, resultando em aumento do fluxo sanguíneo microcirculatório e da perfusão tecidual.

A principal diferença desta técnica, com relação à fluxometria laser-Doppler (LDF), consiste na alta reprodutibilidade das medidas que resulta de avaliações contínuas de áreas extensas da pele, através de tecnologia de contraste de imagens (Cracowski and Roustit, 2016).

Na realidade, a LDF, de ponto único, avalia o fluxo microcirculatório numa região da pele de apenas 1 mm³, resultando em grande variabilidade de resultados, devido à heterogeneidade da densidade capilar na pele (Cracowski and Roustit, 2016).

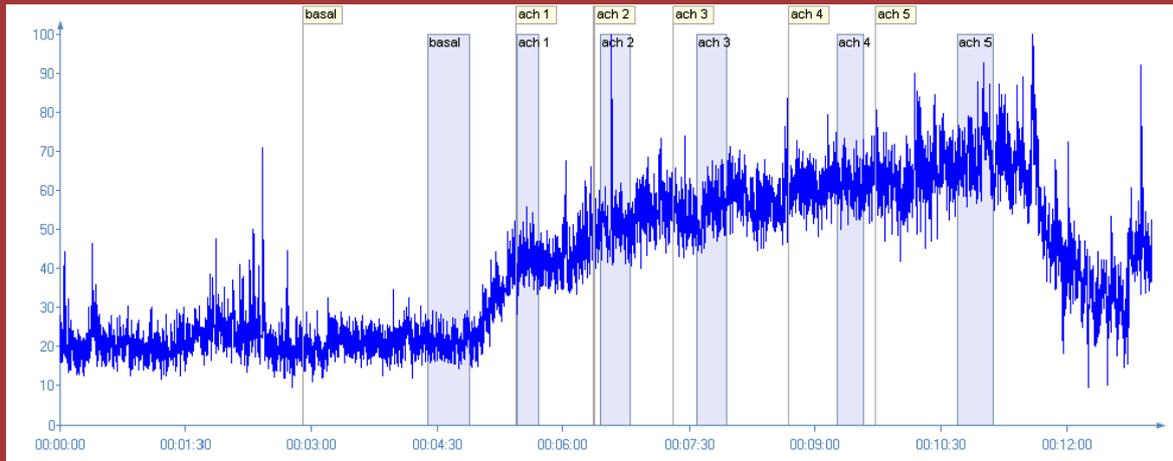


FIGURA 2: Registro representativo do efeito vasodilatador dependente de endotélio, observado na microcirculação cutânea de voluntário sadio, utilizando a metodologia descrita acima.

Nos últimos anos, a LSCI tem sido utilizada com sucesso na avaliação da reatividade microcirculatória sistêmica em diversas doenças cardiovasculares e metabólicas, incluindo hipertensão arterial e diabetes (Cordovil, et al., 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, se encontra bem estabelecido que a circulação cutânea representa um leito vascular acessível e representativo para a avaliação da microcirculação sistêmica, assim como, dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos em doenças cardiovasculares e metabólicas (Hellmann, et al., 2015, Holowatz, et al., 2008).

As alterações da reatividade microvascular induzidas por estas patologias, incluindo a disfunção endotelial e do músculo liso vascular, bem como, alterações estruturais microcirculatórias, podem ser evidenciadas na circulação cutânea e representar a disfunção microvascular sistêmica.

TABELA 1: NÍVEIS DE EVIDÊNCIA DAS PRINCIPAIS RECOMENDAÇÕES E CONCLUSÕES

Recomendação ou Conclusão	Níveis de Evidência
<ul style="list-style-type: none">• O controle glicêmico, da pressão arterial e da dislipidemia diminuem o risco de evolução para as complicações crônicas vasculares do diabetes	A
<ul style="list-style-type: none">• O estresse oxidativo e a disfunção endotelial são os elementos iniciais na patogênese das complicações crônicas vasculares do diabetes.	B
<ul style="list-style-type: none">• A memória celular glicêmica e do estresse oxidativo contribuem para que haja perpetuação dos mecanismos intracelulares responsáveis pela patogênese das complicações crônicas vasculares do diabetes.	C
<ul style="list-style-type: none">• A fluxometria laser-Doppler cutânea é indicada para o diagnóstico de microangiopatia diabética e para a avaliação de efeitos microcirculatórios de intervenções terapêuticas.	B
<ul style="list-style-type: none">• Existe uma correlação estreita entre a função endotelial das circulações coronariana e periférica, quando esta última é avaliada na artéria braquial através de ultrassom (vasodilatação mediada pelo fluxo).	B
<ul style="list-style-type: none">• A avaliação das variações de fluxo sanguíneo do antebraço através de pletismografia de oclusão venosa fornece dados referentes à função endotelial macro e microvascular.	B

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Qaisi, M., et al., 2008. Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag* 4, 647-52.
- Anderson, T. J., et al., 1995. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 75, 71B-74B.
- Bengel, F. M., et al., 2009. Cardiac positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol* 54, 1-15.
- Bonetti, P. O., et al., 2003. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23, 168-75.
- Brownlee, M., 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414, 813-20.
- Calles-Escandon, J., Cipolla, M., 2001. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev* 22, 36-52.
- Chisolm, G. M., Steinberg, D., 2000. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 28, 1815-26.
- Chou, R., et al., 2016.
- Cohn, J. N., et al., 2004. Surrogate markers for cardiovascular disease: functional markers. *Circulation* 109, IV31-46.
- Cordovil, I., et al., 2012. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res* 83, 376-9.
- Cracowski, J. L., Roustit, M., 2016. Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An Updated Focus on Laser-Based-Techniques. *Microcirculation* 23, 337-44.
- Dawber, T. R., et al., 1951. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health* 41, 279-81.
- Eliasson, B., et al., 2005. The gap between guidelines and reality: Type 2 diabetes in a National Diabetes Register 1996-2003. *Diabet Med* 22, 1420-6.
- Gaede, P., et al., 2008. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 358, 580-91.
- Gomes, M. B., et al., 2008. Evaluation of microvascular endothelial function in patients with type 1 diabetes using laser-Doppler perfusion monitoring: which method to choose? *Microvasc Res* 76, 132-3.

- Hellmann, M., et al., 2015. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? *Pharmacol Rep* 67, 803-10.
- Holowatz, L. A., et al., 2008. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol* (1985) 105, 370-2.
- Nathan, D. M., et al., 2005. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 353, 2643-53.
- Pearson, T. A., 2002. New tools for coronary risk assessment: what are their advantages and limitations? *Circulation* 105, 886-92.
- Tousoulis, D., et al., 2013. Diabetes mellitus-associated vascular impairment: novel circulating biomarkers and therapeutic approaches. *J Am Coll Cardiol* 62, 667-76.
- Turner, J., et al., 2008. Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis. *Trends Cardiovasc Med* 18, 109-16.
- Wang, T. J., et al., 2006. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 355, 2631-9.
- Widlansky, M. E., et al., 2003. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42, 1149-60.
- Yvonne-Tee, G. B., et al., 2006. Noninvasive assessment of cutaneous vascular function in vivo using capillaroscopy, plethysmography and laser-Doppler instruments: its strengths and weaknesses. *Clin Hemorheol Microcirc* 34, 457-73.



Referência do Ministério da Saúde no tratamento de alta complexidade em doenças cardíacas, o Instituto Nacional de Cardiologia (INC) atua há mais de 40 anos com destaque em procedimentos hemodinâmicos, cirurgias cardíacas de alta complexidade, incluindo as neonatais.

Atualmente é o único hospital público que realiza transplantes cardíacos em adultos e crianças no Estado do Rio de Janeiro e é o segundo centro que mais realiza cirurgias de cardiopatias congênitas no Brasil.

Formador de profissionais para a rede de saúde, o INC possui Programas de Residência Médica, Enfermagem e Farmácia de excelência, além de cursos de pós-graduação que abrangem diversas áreas de atuação cardiovascular, como Hemodinâmica, Ecocardiografia e Perfusão em Cirurgia Cardíaca. Conta ainda com mestrado multiprofissional em Ciências Cardiovasculares e Avaliação de Tecnologia em Saúde.

No campo da pesquisa, foi escolhido pelo Ministério da Saúde como coordenador do maior estudo multicêntrico já realizado no país na área de terapias celulares em cardiopatas e desenvolve pesquisas clínicas em diversas áreas de diagnóstico e tratamento em cardiologia.

Coordenação de Ensino - Instituto Nacional de Cardiologia
Rua das Laranjeiras, 374 - 5º andar - CEP: 22.240.002 - Rio de Janeiro
secretaria@mestradoinc.com.br
www.mestradoinc.com.br
(21) 3037-2288