



MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
COORDENAÇÃO DE ENSINO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
CARDIOVASCULARES

FERNANDO SANTIAGO MONTENEGRO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS,
REESTENOSE CORONARIANA E EVENTOS CARDIOVASCULARES
APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA PERCUTÂNEA**

RIO DE JANEIRO

2016

FERNANDO SANTIAGO MONTENEGRO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CÉLULAS PROGENITORAS
ENDOTELIAIS, REESTENOSE CORONARIANA E
EVENTOS CARDIOVASCULARES APÓS
ANGIOPLASTIA CORONARIANA PERCUTÂNEA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares do Instituto Nacional de Cardiologia, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Cardiovasculares.

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Rocha De Lorenzo

Rio de Janeiro

2016

M777a Montenegro, Fernando Santiago.

Associação entre células progenitoras endoteliais, reestenose coronariana e eventos cardiovasculares após angioplastia coronariana percutânea / Fernando Santiago Montenegro. – Rio de Janeiro, 2016.

76 f.

Dissertação (Mestrado Profissional em Ciências Cardiovasculares) Instituto Nacional de Cardiologia – INC

1. Células progenitoras endoteliais. 2. Reestenose coronária. 3. Angioplastia. I. Título.

CDU- 616.1-01

FERNANDO SANTIAGO MONTENEGRO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS,
REESTENOSE CORONARIANA E EVENTOS CARDIOVASCULARES
APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA PERCUTÂNEA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares, do Instituto Nacional de Cardiologia, como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em 29 de fevereiro de 2016.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2016

Dr. Daniel Arthur Barata Kasal – Instituto Nacional de Cardiologia

Dra. Aurora Felice de Castro Issa – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr. Glauber Monteiro Dias - Instituto Nacional de Cardiologia

Dedico esse trabalho a minha amada esposa
e nosso filho que está para nascer

AGRADECIMENTOS

Primeiramente não poderia deixar de agradecer a minha orientadora a Profa. Dra Andréa Rocha de Lorenzo pela disponibilidade em me orientar e pela paciência e compreensão das minhas dificuldades.

A Fabiana Muccillo pela análise celular sem as quais nada deste trabalho teria acontecido.

Ao bioestatístico Marcelo Correia pela disponibilidade em analisar, reanalisar e novamente reanalisar os dados.

Ao Dr. Sergio Leandro por apoiar e permitir a realização do trabalho sem o qual não haveria os pacientes.

Aos funcionários do laboratório geral do INC que, pela quantidade de pessoas que me ajudaram, me refiro a todos para não cometer a injustiça de esquecer algum.

Aos pacientes que sempre colaboraram e compareceram as consultas espero que o trabalho possa ser uma contribuição na melhora do tratamento de sua doença.

Ao segurança Messias do quinto andar que organizava e me informava sobre cada paciente que aguardava na sala de espera.

Aos rotinas da Unidade Coronariana do Hospital Silvestre, companheiros e amigos do dia a dia, deram força para o término do trabalho.

Aos meus pais pela criação e apoio indiscriminado, espero que cada vez mais tenham orgulho de seu filho.

Ao meu irmão, que mesmo com a distância, sempre esteve do meu lado em todos os momentos da minha vida.

A minha esposa Mariana pela paciência diária principalmente durante esse final e por estar carregando o maior presente que poderíamos ter.

“A ciência se compõe de erros que,
por sua vez, são os passos até a verdade.”

Julio Verne

RESUMO

Introdução: As células progenitoras endoteliais (CPE) são produzidas na medula óssea e mobilizadas para a corrente sanguínea após injúria vascular, tendo um papel fundamental no reparo endotelial. Todavia, sua influência no reparo vascular após intervenção coronariana percutânea (ICP) é controversa, tendo sido descritas associações com o desenvolvimento de reestenose após ICP com implante de stent e a ocorrência de eventos cardiovasculares. **Objetivos:** Avaliar o número de CPE circulantes antes e após ICP com implante de *stent* e sua associação com a ocorrência de reestenose coronariana e eventos cardiovasculares adversos após o procedimento. **Métodos:** Trabalho prospectivo, com acompanhamento de um ano, avaliando pacientes do sexo masculino submetidos a ICP eletiva com implante de *stent* no Instituto Nacional de Cardiologia (INC). Realizou-se a coleta de sangue venoso periférico antes e no dia seguinte após o procedimento de angioplastia e a identificação das CPE ($CD45^+CD34^+CD31^+CD133/2^+CD309^+$) através de imunofenotipagem por citometria de fluxo. Os desfechos primários analisados foram a necessidade de nova revascularização do vaso previamente abordado, reestenose angiográfica do *stent* previamente implantado, angina ou equivalente anginoso com cintilografia miocárdica demonstrando isquemia. Os desfechos secundários foram angina ou equivalente anginoso sem cintilografia miocárdica, síndrome coronariana aguda e óbito por qualquer causa. **Resultados:** O número de CPE circulantes pré-angioplastia coronariana foi maior em pacientes em uso de clopidogrel. O número absoluto de CPE circulantes pós-angioplastia coronariana foi maior em pacientes em uso de beta-bloqueador. Houve redução de CPE pós-angioplastia em pacientes em uso de bloqueadores do receptor de angiotensina. Pacientes com diabetes, idade acima de 60 anos, em uso de clopidogrel ou beta-bloqueador mostraram tendência a redução de CPE pós-angioplastia, e em pacientes com IAM até 90 dias a tendência foi de aumento. Os desfechos primários ocorreram em 8,7% e os secundários em 37,0% dos pacientes. Não houve associação estatisticamente significativa entre CPE e desfechos. **Conclusão:** Não houve associação entre CPE e a ocorrência de reestenose coronariana e de eventos cardiovasculares adversos após intervenção coronariana percutânea.

Palavras-chave: células progenitoras endoteliais, doença da artéria coronariana, angioplastia, reestenose coronária, angina pectoris, síndrome coronariana aguda

ABSTRACT

Introduction: Endothelial progenitor cells (EPC) are produced in the bone marrow and mobilized to the peripheral blood after vascular injury, with a main role in endothelial repair. Their effects on the mechanisms of vascular repair after percutaneous coronary intervention (PCI) are controversial, and an association with clinical and angiographic restenosis after PCI with stent implantation has been described. **Objective:** To evaluate the number of circulating EPC before and after PCI with *stent* implantation and their associations with coronary restenosis and adverse cardiovascular events. **Methods:** Prospective study with one year follow up, assessing male patients undergoing elective PCI at the National Institute of Cardiology (INC), with stent implantation, were evaluated. Venous blood was obtained before and the day after the angioplasty procedure. Quantification of total white blood count and identification of EPC (CD45⁺CD34⁺CD31⁺CD133/2⁺CD309⁺) through immunophenotyping by flow cytometry was performed. The primary outcomes were the need for new revascularization of the target vessel, angiographic restenosis of previously implanted stent, angina or anginal equivalent with myocardial scintigraphy demonstrating ischemia. Secondary outcomes were angina or anginal equivalent without with myocardial scintigraphy, or all-cause death. **Results:** The number of EPC pre-PCI was higher in patients using clopidogrel. The number of EPC post-PCI was higher in patients using bet-blockers. Using the ratio of EPC pre/post PCI, there was a reduction of EPC post-PCI in patients using angiotensin receptor blockers. Patients with diabetes, age >60 years, using clopidogrel or beta-blocker showed a tendency towards reduction of EPC post-angioplasty, while patients with myocardial infarction in the 90 days before angioplasty showed a tendency towards increase of EPC after angioplasty. Primary outcomes occurred in 8.7% and the secondary in 37.0% of the patients. There was no statistically significant association between EPC and events. **Conclusion:** There was no association between EPC and the occurrence of coronary restenosis and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention.

Key words: endothelial progenitors cells, coronary artery disease, angioplasty, coronary restenosis, angina pectoris, acute coronary syndrome

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma demonstrando o processo de identificação das células progenitoras endoteliais _____	31
Figura 2: Desenho do estudo _____	32
Figura 3: Fluxograma de seleção dos pacientes _____	36
Figura 4: Distribuição do número absoluto de CPE pré-angioplastia _____	39
Figura 5: Distribuição do número absoluto de CPE pós-angioplastia _____	40
Figura 6: Distribuição da relação CPE pré-angioplastia/pós angioplastia _____	40
Figura 7: Comportamento das CPE antes e após a angioplastia _____	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Definição e classificação de reestenose	20
Tabela 2: Características demográficas e clínicas	38
Tabela 3: Variáveis demográficas e clínicas e CPE pré angioplastia	42
Tabela 4: Variáveis demográficas e clínicas e CPE pós angioplastia	43
Tabela 5: Variáveis demográficas e relação CPE pré/pós angioplastia	44
Tabela 6: Associação entre número de stents por procedimento e CPE	45
Tabela 7: Desfechos	46
Tabela 8: Associação entre desfechos e número de CPE pré angioplastia	46
Tabela 9: Associação entre desfechos e número de CPE pós angioplastia	47
Tabela 10: Associação entre desfechos e número de CPE	47
Tabela 11: Associação entre variáveis clínicas e demográficas e o desfecho primário	48
Tabela 12: Associação entre variáveis clínicas e demográficas e o desfecho secundário	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente vascular cerebral
BRA	Bloqueador do receptor de angiotensina
CD	<i>Cluster of differentiation</i> Grupamento de diferenciação
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CPML	Células progenitoras de músculo liso
CPE	Células progenitoras endoteliais
CRVM	Cirurgia de revascularização do miocárdio
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doença cardiovascular
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EUA	Estados Unidos da América
FFR	Reserva de fluxo fracionado
G-CSF	<i>Granulocyte-colony stimulating fator</i> Fator de crescimento de colônias de granulócitos
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICP	Intervenção coronariana percutânea
IECA	Inibidor da enzima conversora de angiotensina
IMC	Índice de massa corporal
INC	Instituto Nacional de Cardiologia
IRC	Insuficiência renal crônica
KDR	<i>Kinase insert domain receptor</i> Receptor do domínio Kinase
SCA	Síndrome coronariana aguda
SUS	Sistema único de saúde

TIMI *Thrombolysis in Myocardial Infarction*

VEGFR-2 *Vascular endothelial growth factor receptor 2* Receptor-2 do fator de crescimento do endotélio vascular

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 DOENÇA ATEROSCLERÓTICA E FUNÇÃO ENDOTELIAL	16
2.2 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS	17
2.3 ANGIOPLASTIA NA DOENÇA CORONARIANA	19
2.4 REESTENOSE APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA	20
2.5 FISIOPATOLOGIA DA REESTENOSE	20
2.6 CPE E REESTENOSE APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA	22
3. JUSTIFICATIVA	25
4. OBJETIVOS	26
5. MÉTODOS	27
5.1 DESENHO DO ESTUDO	27
5.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	27
5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	27
5.4 VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS	27
5.5 COLETA DE SANGUE	29
5.6 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE CPE	29
5.7 INTERVENÇÃO CORONARIANA PERCUTÂNEA	32
5.8 ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES	32
5.9 DESFECHOS ANALISADOS	32
5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5.11 ASPECTOS ÉTICOS	34
6. RESULTADOS	35
6.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS	35
6.2 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS	38
6.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE CPE E VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS	41
6.4 DESFECHOS	45
6.4.1 ASSOCIAÇÃO ENTRE DESFECHOS, CPE E VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS	46
7. DISCUSSÃO	50
8. LIMITAÇÕES	56
9. PERSPECTIVAS FUTURAS	57
10. CONCLUSÕES	58
11. REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. Dados da organização mundial de saúde mostram que 17,5 milhões de pessoas morrem anualmente de doença cardiovascular (DCV)¹. Nos Estados Unidos (EUA), 1 de cada 4 óbitos é decorrente da DCV, sendo a doença arterial coronariana (DAC) a forma mais comum, com 370.000 mortes por ano gerando um custo de 108.9 bilhões de dólares anualmente².

No Brasil, a doença isquêmica do coração foi responsável por 103.486 mil óbitos em 2011³. Em 2004, mais de dois milhões de casos de DCV foram registrados no Brasil, representando 5,2% da população acima de 35 anos com um custo anual de 30,8 bilhões de reais⁴.

Devido a esse impacto, a DAC tem sido extensivamente estudada, desde a sua fisiopatologia até o desenvolvimento de diferentes tipos de intervenção terapêutica. Quanto a esta, constitui-se sempre da terapia farmacológica com objetivo de estabilizar a placa, reduzir a progressão da doença aterosclerótica, reduzir o consumo de oxigênio e aumentar a reserva coronariana. Além disso, muitos pacientes necessitam de terapias de revascularização na tentativa de restabelecer o fluxo coronariano normal⁵. Dentre as formas de revascularização disponíveis, a intervenção coronariana percutânea (ICP) tem se desenvolvido ao longo dos anos⁶ e atualmente consiste numa das principais formas de tratamento da DAC. No Brasil, entre 2005 e 2008 foram realizadas 166.951 intervenções coronarianas percutâneas, com uma mortalidade hospitalar global de 2,33%⁷. No Estado do Rio de Janeiro, entre 1999 e 2003 foram realizadas 8735 angioplastias coronarianas, com aumento a cada ano⁸. O desenvolvimento da reestenose coronariana constitui um problema associado a esse procedimento, e que limita os benefícios por ele concedidos⁹. Assim, a melhor compreensão dos processos fisiopatológicos que ocorrem após a angioplastia percutânea pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias que previnam ou retardem a ocorrência de reestenose.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DOENÇA ATEROSCLERÓTICA E FUNÇÃO ENDOTELIAL

A doença aterosclerótica tem na sua fisiopatologia uma série muito específica de respostas celulares e moleculares que podem descrevê-la como uma doença inflamatória^{10,11}. Observações iniciais levaram à formulação da hipótese de que a aterosclerose seria uma resposta a lesão, cujo processo inicial ocorreria pela desnudação do endotélio¹². Atualmente a hipótese mais aceita modifica o conceito de desnudação endotelial para disfunção endotelial¹³.

O endotélio normal atua na manutenção da homeostase vascular através de um complexo sistema de interação com células tanto no lúmen quanto na parede do vaso. Especificamente, o endotélio regula o tônus vascular através da produção de vasodilatadores, incluindo o óxido nítrico, e vasoconstrictores¹⁴. Além disso, controla a fluidez sanguínea e a coagulação através da produção de fatores que regulam atividade plaquetária, a cascata de coagulação e o sistema fibrinolítico. Finalmente, o endotélio tem a capacidade de produzir citocinas e moléculas de adesão que regulam e direcionam o processo inflamatório¹⁵.

Os fatores de risco cardiovasculares como fumo, idade, hipertensão, hipercolesterolemia, hiperglicemia, dentre outros, iniciam um processo inflamatório crônico no endotélio que é acompanhado pela perda dos fatores vasodilatadores e antitrombóticos e um aumento nos fatores vasoconstrictores e pró-trombóticos¹⁶. A alteração da vasorreatividade não é a única alteração presente em pacientes de alto risco; observa-se também um fenótipo mais pró-trombótico associado à expressão pelo endotélio de fatores quimiotáticos de leucócitos, moléculas de adesão e citocinas inflamatórias¹⁷.

Essas alterações caracterizam o termo disfunção endotelial¹⁴, que na presença de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), promovem a diferenciação de monócitos em macrófagos e o acúmulo de lipídeos no citosol, transformando-se em células espumosas nas fases iniciais da placa de aterosclerose. Durante a progressão da doença, outros tipos celulares como linfócitos B e T e células dendríticas participam da maturação da placa e da persistência do estado

inflamatório crônico. Necrose central e neovascularização caracterizam os estágios finais da placa¹⁸.

2.2 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS

As células progenitoras endoteliais (CPE) foram primeiramente descritas em 1997 por Asahara *et al.* através da marcação de dois antígenos presentes tanto nas células tronco hematopoiéticas quanto células endoteliais, o CD34 e Flk1¹⁹. Desde então, estas células têm sido estudadas em diversas patologias, todas relacionadas com lesão e reparação endotelial.

As CPE geradas na medula óssea são mobilizadas para a corrente sanguínea e recrutadas em áreas onde há injúria vascular, sendo incorporadas nos vasos e diferenciadas em células endoteliais para repor o endotélio comprometido e prover suporte parácrino ao restante da vasculatura²⁰. Por exemplo, na retinopatia diabética a incapacidade das CPE em realizar o reparo vascular leva ao desenvolvimento do estágio degenerativo da doença²¹.

Em relação à doença cardiovascular, um estudo de Hill *et al* publicado em 2003 demonstrou uma relação entre as CPE, risco cardiovascular e função endotelial avaliada pela reatividade da artéria braquial. O estudo utilizou 45 indivíduos acima de 21 anos, todos do sexo masculino (as mulheres foram excluídas pelo fator confundidor relacionado à angiogênese durante o ciclo menstrual), alguns com fatores de risco e outros sem fatores de risco para DCV. Identificou-se que os pacientes com escore de Framingham mais elevados tinham menores contagens de CPE, e foi demonstrado que quanto maior a reatividade braquial, maior a contagem de CPE²². Esse trabalho, porém, não demonstrou relação das CPE com eventos cardiovasculares.

Vasa *et al* já haviam em 2001 correlacionado os fatores de risco para doença aterosclerótica com o número e função das CPE. Nesse trabalho 45 indivíduos com doença coronariana angiograficamente documentada e 9 controles saudáveis foram selecionados. Aqueles com doença inflamatória ou malignidade foram excluídos. As CPE estavam significativamente diminuídas, em torno de 48%, quando comparadas aos indivíduos saudáveis. O número de fatores de risco estava inversamente

relacionado ao número de CPE, e na análise multivariada o fumo foi um preditor independente para redução das CPE. Além disso, indivíduos com doença coronariana tiveram a mobilização de CPE significativamente reduzidas em relação aos indivíduos sadios, e o número de fatores de risco para doença aterosclerótica se correlacionou com a redução na capacidade migratória das CPE²³.

Em 2005, Werner *et al* realizaram um trabalho maior, correlacionando as CPE com desfechos cardiovasculares em 587 pacientes com doença coronariana comprovada em cineangiocoronariografia. Não houve exclusão por sexo (neste caso a maioria dos pacientes já tinha idade mais avançada, o que excluiu o viés do ciclo menstrual). Novamente pacientes com malignidade, doença inflamatória ou isquemia aguda de causa não cardíaca foram excluídos. O acompanhamento ocorreu durante 12 meses visando avaliar os desfechos de morte por causa cardiovascular, primeiro evento cardiovascular maior (infarto agudo do miocárdio, hospitalização por causa cardiovascular, revascularização ou morte por causa cardiovascular), necessidade de revascularização, hospitalização por causa cardiovascular e morte por qualquer causa. A presença de um número elevado de CPE foi relacionada a uma redução no risco de morte por causa cardiovascular. Mesmo após o ajuste para outras variáveis como idade, sexo, disfunção ventricular e gravidade da doença coronariana, a associação entre níveis elevados de CPE e redução de morte por causa cardiovascular se manteve significativa. Também houve relação entre primeiro evento cardiovascular maior e número reduzido de CPE. Essa relação também se manteve significativa na análise multivariada após ajuste para outras variáveis confundidoras²⁴.

Por sua vez, Güven *et al* demonstraram um aumento no número de CPE circulantes em pacientes com doença coronariana. Um total de 48 pacientes submetidos à cateterismo cardíaco foram divididos em dois grupos, um com doença coronariana significativa e outro sem doença coronariana. Observou-se que o número de CPE se correlacionou positivamente com a presença e gravidade da doença coronariana, com o maior número de CPE nos pacientes com doença coronariana mais grave, selecionados para procedimentos de revascularização²⁵.

2.3 ANGIOPLASTIA NA DOENÇA CORONARIANA

Desde 1977, quando Andreas Gruntzig realizou a primeira angioplastia com balão²⁶, diversos dispositivos e técnicas foram desenvolvidas. Apesar da revolução causada pela introdução da angioplastia com cateter-balão no tratamento alternativo e menos invasivo das obstruções do leito coronariano, logo se percebeu que este método possuía algumas limitações decorrentes das taxas de sucesso imediatas relativamente baixas, com a frequente presença de lesões residuais importantes e a ocorrência de complicações do tipo dissecção e oclusão aguda do vaso. No longo prazo, a depender da complexidade da lesão e do perfil clínico do paciente, a possibilidade de recorrência da estenose podia chegar até 70 a 80%.²⁷⁻²⁹ O desenvolvimento dos *stents* metálicos não farmacológicos reduziu a taxa de recolhimento elástico agudo e o remodelamento negativo crônico, os dois principais mecanismos de falência da angioplastia por balão. Em contrapartida, o trauma vascular induzido pelo implante destas endopróteses gerava resposta reparadora local, com formação de tecido cicatricial (neointimal). Ainda que na maioria dos casos essa resposta fosse considerada fisiológica, a depender do cenário clínico, 15 a 25% dos pacientes tratados com *stents* não farmacológicos podiam apresentar, dentro do primeiro ano de evolução, resposta cicatricial exacerbada, resultando em reestenose da lesão alvo^{30,31}.

Desde 1999, quando Sousa *et al* testaram o primeiro modelo de *stent* farmacológico em humanos demonstrando eficácia na prevenção da reestenose em pacientes submetidos a angioplastia com balão³², muito se desenvolveu tanto na forma dos mesmos quanto no polímero ao redor. As complicações precoces foram intensamente reduzidas, porém manteve-se a preocupação com a reestenose tardia³³. Diversos estudos ao longo dos anos, principalmente com autópsias, permitiram uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos responsáveis por essa complicação tardia. A neoaterosclerose parece desempenhar um papel fundamental nesta complicação tanto nos *stents* não farmacológicos com nos farmacológicos, sendo mais precoce e com maior importância nos farmacológicos³⁴. O mecanismo preciso do desenvolvimento da neoaterosclerose ainda não está completamente elucidado, porém as principais hipóteses correlacionam cobertura endotelial e função endotelial com esta fisiopatologia.

2.4 REESTENOSE APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA

A reestenose pode ser definida de maneira angiográfica como uma redução de mais de 50% do lúmen da artéria submetida ao procedimento no local onde foi implantado o *stent*. A definição de reestenose clínica, por sua vez, pode ser feita com base na redução do diâmetro do lúmen arterial em mais de 50% associado à presença de sintomas ou demonstração de isquemia em testes provocativos³⁵ como descrito na tabela 1.

Tabela 1: Definição e classificação de reestenose

Reestenose angiográfica
Diâmetro da estenose $\geq 50\%$ Tipo 1 focal: $\leq 10\text{mm}$ em comprimento Tipo 2 difusa: $> 10\text{mm}$ dentro do <i>stent</i> Tipo 3 proliferativa: $>10\text{mm}$ estendendo-se além das margens do <i>stent</i> Tipo 4 oclusões total: lesão reestenótica com fluxo TIMI 0
Reestenose clínica
Diâmetro da estenose maior que 50% associado a um dos seguintes: História positiva de angina recorrente presumidamente relacionada ao vaso tratado Sinais objetivos de isquemia no repouso (alterações eletrocardiográficas) ou durante teste de esforço, presumidamente relacionada ao vaso tratado Resultados anormais em qualquer teste funcional invasivo (ex.: FFR $< 0,80$); ultrassom intracoronariano com área seccional $< 4\text{mm}^2$ (e $< 6\text{mm}^2$ para tronco de coronária esquerda) tem se correlacionado com resultados anormais de FFR Revascularização da lesão culpada com diâmetro da estenose $\geq 70\%$ na ausência dos sinais de e sintomas isquêmicos acima

TIMI: Thrombolysis in Myocardial Infarction; FFR: reserva de fluxo fracionado. Fonte: Adaptado de Dangas GD, Claessen BE, Caixeta A, Sanidas EA, Mintz GS, Mehran R. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era. J Am Coll Cardiol. 2010;56:1897–190

2.5 FISIOPATOLOGIA DA REESTENOSE

A angioplastia, seja apenas com balão ou implante de *stent* metálico ou farmacológico, leva a uma lesão mecânica do vaso, estimulando uma série de mediadores inflamatórios. Imediatamente após a angioplastia, plaquetas e fibrina se depositam na área desendotelizada da parede vascular e recrutam leucócitos através de uma cascata de células de adesão. A ligação inicial entre leucócitos e plaquetas é mediada entre a glicoproteína ligante 1 da P-selectina e o receptor P-selectina da plaqueta. Leucócitos circulantes se aderem firmemente às plaquetas

quando a integrina de leucócitos Mac-1 (CD11bCD18) se liga à glicoproteína Ib-alfa das plaquetas. Um papel direto do Mac-1 na adesão leucocitária após injúria mecânica foi demonstrado em diversos experimentos cuja inibição reduzia a proliferação neointimal após angioplastia experimental³⁶.

Os leucócitos aderidos, plaquetas e as células musculares lisas produzem fatores de crescimento como o fator de crescimento de colônias de granulócitos (G-CSF) que influenciam a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média para a neointima. O resultado consiste na formação de uma neointima com células musculares lisas, matriz extra-celular e macrófagos recrutados ao longo de várias semanas^{29,37}.

O G-CSF é uma potente citocina hematopoiética capaz de estimular a liberação pela medula óssea de células CD34⁺ que podem se diferenciar em células progenitoras endoteliais e células progenitoras de músculo liso (CPML)^{36,38}.

Células circulantes CD34⁺ estão aumentadas nos dias após infarto agudo do miocárdio (IAM) e sua caracterização demonstrou um fenótipo tipo CPE cuja finalidade seria promover angiogênese no miocárdio isquêmico³⁶. Em contraste, a maior mobilização após angioplastia de células CD34⁺ com fenótipo tipo CPML presumidamente em resposta ao estímulo inflamatório estaria associada a maiores taxas de reestenose³⁹.

Como descrito, o reparo endotelial constitui um processo fundamental após a injúria vascular de qualquer natureza, tendo maior importância nos pacientes submetidos a angioplastia pela sua direta ligação com a reestenose. A capacidade de determinar a resposta endotelial de cada indivíduo poderia determinar um fenótipo mais propenso ou não a esta complicação. As investigações dos mecanismos de reparo endotelial demonstraram um papel para as CPE promovendo o reparo vascular e diminuindo a formação neointimal²⁵. Porém, o seu papel dentro da fisiopatologia da reestenose ainda não está completamente compreendido e os trabalhos ainda possuem resultados contraditórios ao analisarem a sua correlação com a reestenose e eventos cardiovasculares.

2.6 CPE E REESTENOSE APÓS ANGIOPLASTIA CORONARIANA

George *et al* formularam a hipótese de que as CPE estariam deficientes ou hipoestimuladas em pacientes com reestenose. Nesse estudo, em 16 pacientes com angina instável e coronariografia mostrando reestenose e 11 pacientes com angina instável e *stent* pérvio demonstrado pela coronariografia e com nova lesão culpada, não houve diferença dos níveis de CPE circulantes entres os grupos com e sem reestenose, porém houve uma redução da capacidade de adesão das CPE nos primeiros. Foi observado também que os pacientes com reestenose difusa constituíam um subgrupo de pacientes com número reduzido de CPE⁴⁰.

No estudo de Bonello *et al*, com 15 pacientes submetidos a angioplastia eletiva e no qual os valores de CPE foram avaliados antes e após 6h, 24h, 48h e 72h da angioplastia, demonstrou-se que mesmo o trauma vascular limitado e o curto período de isquemia eram suficientes para mobilizar as CPE da medula óssea⁴¹.

Em 2010, Pelliccia *et al* avaliaram 160 pacientes submetidos a angioplastia eletiva e a nova angiografia 8 meses após o procedimento. Uma coorte de controles saudáveis, comparável em termos de idade, sexo e índice de massa corporal (IMC) foi também estudada. Após a coronariografia de 8 meses, os pacientes foram divididos em três grupos – pacientes com reestenose (30 pacientes), com progressão de lesão coronariana sem reestenose (22 pacientes) e o restante sem nenhuma das características acima. Observou-se que o subgrupo de pacientes com reestenose apresentava níveis mais elevados de subgrupos de CPE quando comparado com os outros dois grupos principalmente o subgrupo CD34⁺ e CD133⁺⁴².

O trabalho de Pelliccia *et al* teve continuidade com uma subanálise pré-especificada do grupo de pacientes selecionados acima. Todos os pacientes submetidos a angioplastia com implante de *stent* metálico foram acompanhados durante 5 anos. Um total de 155 pacientes foram avaliados para o desfecho primário de evento adverso cardíaco ou cerebrovascular maior em 5 anos incluindo morte por todas as causas, IAM e necessidade de nova revascularização. Os desfechos secundários incluíram os componentes individuais dos desfechos primários e um desfecho composto constituído de morte por qualquer causa, acidente vascular

cerebral (AVC) e IAM. Observou-se que o número de eventos cardíacos ou cerebrovasculares maiores em 5 anos aumentou significativamente em pacientes com altos níveis dos subgrupos de CPE $CD34^+/KDR^+/CD45^-$ e $CD133^+/KDR^+/CD45^-$. Quando os eventos foram avaliados separadamente, observou-se diferença em relação a morte por todas as causas entre os dois subgrupos de CPE $CD34^+/KDR^+/CD45^-$ e $CD133^+/KDR^+/CD45^-$. Na análise multivariada o aumento no log das células $CD34^+/KDR^+/CD45^-$ estava associado a um aumento de 35% e um aumento no log das células $CD133^+/KDR^+/CD45^-$ estava relacionado a um aumento de 25% no risco de evento cardíaco ou cerebrovascular maior. Esse trabalho concluiu que altos níveis de CPE circulantes no momento da angioplastia estavam associados ao aumento do risco de evento cardíaco ou cerebrovascular maior em 5 anos⁴³.

Como observado nos estudos relatados, existe uma controvérsia entre o papel das CPE na doença cardiovascular. Enquanto alguns demonstram o seu papel protetor, reduzindo a probabilidade de evento coronariano e protegendo aqueles com fatores de risco, outros trabalhos em pacientes submetidos a intervenção coronariana demonstram um efeito inverso, aumentando o risco de reestenose e eventos cardiovasculares naqueles com níveis mais altos de CPE.

Pode-se observar que ao longo do tempo os trabalhos modificaram os marcadores de superfície utilizados e consequentemente a subpopulação de CPE selecionadas. Ao longo da maturação celular existe a modificação na expressão desses marcadores de superfície celular. Assim dependendo dos marcadores selecionados podemos avaliar células mais imaturas ou maduras, o que modifica sua capacidade de diferenciação celular e consequentemente sua ação nas diferentes situações clínicas⁴⁴.

Em nosso trabalho optamos por estudar a subpopulação de CPE considerada mais imatura e com maior potencial de diferenciação em células endoteliais maduras, $CD45^-CD34^+CD31^+CD133/2^+CD309^+$ ⁴⁵. O estudo de Pellicia mostrou que essa subpopulação celular possui relação com reestenose coronariana e eventos cardiovasculares^{42,43}.

O Instituto Nacional de Cardiologia (INC) é o hospital de referência em cardiologia no estado do Rio de Janeiro, sendo responsável pela grande maioria dos

procedimentos de angioplastia no SUS neste estado. Por exemplo, no ano de 2014, o INC realizou 2044 coronariografias e 872 angioplastias, e em 2015 foram 2705 coronariografias e 1445 angioplastias. A ocorrência de reestenose pós angioplastia pode contribuir tanto para uma maior morbidade nesta população quanto para maiores custos no âmbito do SUS, associados a novas intervenções, bem como a impactos sociais como a redução da capacidade laborativa dos pacientes afetados.

As CPE, com seu papel fundamental no reparo vascular, surgem como um dos possíveis fatores cuja avaliação poderia determinar o risco de reestenose pós angioplastia. Sua participação dentro do processo de reestenose após revascularização percutânea ainda está sendo estudada. Os trabalhos já realizados, ainda poucos, são com pequeno número de participantes e resultados controversos.

3. JUSTIFICATIVA

Apesar da evolução das técnicas de revascularização percutânea ter reduzido as taxas de reestenose, esta complicação da angioplastia percutânea não foi eliminada. A melhor compreensão do papel das células progenitoras endoteliais, pode permitir o desenvolvimento de formas de prevenir ou reduzir a incidência desta complicação.

4. OBJETIVOS

Primários:

Avaliar a associação entre CPE circulantes, a ocorrência de reestenose coronariana e de eventos cardiovasculares adversos após intervenção coronariana percutânea em homens submetidos a angioplastia coronariana percutânea eletiva no INC

Secundários:

Avaliar o número de CPE circulantes pré-angioplastia coronariana, pós-angioplastia coronariana e a sua variação pré/pós angioplastia

Avaliar a associação entre CPE e variáveis demográficas e clínicas dos pacientes submetidos à angioplastia coronariana

5 MÉTODOS

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo realizado entre junho de 2014 e outubro de 2015, com pacientes do sexo masculino submetidos a angioplastia coronariana percutânea eletiva no INC, com implante de *stent* farmacológico ou convencional. Em todos os casos houve a leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (apêndice A) e após a concordância e assinatura do mesmo pelo paciente e o pesquisador realizou-se uma anamnese detalhada com preenchimento do formulário de pesquisa (apêndice B).

5.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Sexo masculino
- Idade maior ou igual a 18 anos
- Realização de angioplastia coronária eletiva com implante de *stent* convencional ou farmacológico.

5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Desenvolvimento de qualquer complicação durante ou após a angioplastia que tenha impedido a alta no dia seguinte ao procedimento
- Doenças inflamatórias sistêmicas ou neoplasia em atividade
- Insuficiência renal crônica com necessidade de terapia dialítica

5.4 VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS

As seguintes variáveis foram analisadas:

- Idade

- Hipertensão arterial, definida como a pressão arterial (aferida em mais de duas ocasiões) maior ou igual a 140 mmHg na pressão sistólica e/ou maior ou igual a 90mmHg na pressão diastólica⁴⁶ e/ou uso de medicação anti-hipertensiva
- Diabetes, definido pela história de diagnóstico da doença associado a uso de tratamento hipoglicemiante (oral ou injetável).
- Obesidade, definida como índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 30 Kg/m²
- Tabagismo ativo, considerado no indivíduo que ainda está fumando ou parou há menos de seis meses
- Tabagismo prévio, definido como o que cessou há mais de seis meses
- Insuficiência renal crônica (IRC), definida como creatinina sérica maior ou igual 1,5mg/dl
- História de infarto agudo do miocárdio, definido através do relato do paciente associado a evidências de alterações eletrocardiográficas, ecocardiográficas ou outras compatíveis com tal diagnóstico, obtidas em prontuário médico ou exames complementares
- Angioplastia prévia, considerada qualquer modalidade de angioplastia como balão convencional, balão farmacológico, implante de *stent* convencional ou farmacológico.
- Cirurgia de revascularização do miocárdio (CRVM) prévia
- Medicações em uso, incluindo aspirina, clopidogrel, inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueador do receptor de angiotensina (BRA), beta bloqueador, estatina.
- Dados angiográficos:
 - Doença coronariana significativa foi considerada como aquela detectada na cineangiocoronariografia imediatamente anterior à angioplastia, quando observada obstrução $\geq 50\%$ do diâmetro luminal em artéria coronária epicárdica. Os pacientes foram classificados, quanto ao número de obstruções coronarianas, em univascular, bivascular e trivascular, conforme

a existência de obstrução $\geq 50\%$ em um, dois ou três sistemas da circulação coronariana (sistema da descendente anterior, sistema da circunflexa e sistema da coronária direita).

- Foram registrados o número total de obstruções coronarianas maiores ou iguais a 50% do lúmen arterial, independentemente do sistema coronariano acometido, conforme descrição no laudo da cinecoronariografia, bem como o número e o tipo de *stents* implantados em cada procedimento.

5.5 COLETA DE SANGUE

Uma amostra de sangue periférico foi coletada utilizando-se tubos a vácuo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) antes do procedimento e após o mesmo, antes da alta hospitalar. A amostra de sangue foi fracionada para análise da concentração de leucócitos totais no laboratório central do INC e análise da concentração de CPE no laboratório do Centro de Tecnologia Celular do INC.

5.6 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE CPE

As CPE foram isoladas de amostras do sangue venoso periférico refrigeradas entre 4 a 8°C, sendo processadas e analisadas no máximo 24 horas após a coleta.

Um painel de anticorpos monoclonais foi utilizado: anti-CD45 (Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA), anti-CD34 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), anti-CD31 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), anti-CD133 (Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA), anti-CD 309 (KDR/VEGFR2; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA). As células foram então analisadas utilizando-se estratégia sequencial de *Gates* em conformidade com a Sociedade Internacional de Hemoterapia e Engenharia de Enxerto⁴⁷. A seguinte subpopulação de CPE foi identificada: CD45⁻CD34⁺CD31⁺CD133/2⁺CD309⁺.

Utilizou-se a imunofenotipagem através da citometria de fluxo no aparelho FACS CANTO BD[®] (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). A aquisição dos eventos foi feita através de software FACSDIVA[®] v6.1.3 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) e a sua análise pelo software Infinicyt (Cytognos, Salamanca, ESP).

Citometria de fluxo é uma técnica que permite a detecção e localização de antígenos/proteínas de superfície ou citoplasmática em suspensões celulares utilizando anticorpos específicos, marcados com fluorocromos, que absorvem luz e a emitem num determinado comprimento de onda. Os fluorocromos, depois de excitados por um comprimento de onda específico, emitem fluorescência (fótons de luz) a um comprimento de onda superior. Por exemplo, o fluoresceína isocianetada tem um comprimento de onda máximo de excitação a 496nm (azul a caminho do verde) e uma emissão de fluorescência máxima a 520 (o chamado verde fluorescente). O uso combinado de filtros que barram a luz para comprimento de onda previamente determinados permite visualizar estas moléculas. Os seguintes fluorocromos foram utilizados: PerCP (Peridinin-Chlorophyll; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA), PE Cy7 (Phycoerytrin Cyanin 7; BD Biosciences, San Jose, CA, USA), FITC (Fluorescein Isothiocyanate; BD Biosciences, San Jose, CA, USA), PE (Phycoerytrin; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA), APC (Allophycocyanin; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA).

A contagens dos diferentes tipos de CPE foram reportados em células por 2.000.000 de eventos. As medidas foram realizadas por um operador sem conhecimento da condição clínica dos pacientes.

Em resumo a identificação da população de CPE seguiu os seguintes passos (figura 1):

- criação de um histograma de distribuição celular a fim de identificar as células quanto ao tamanho e complexidade.
- seleção das células CD45⁻ e exclusão do restante (CD 45⁻ é um marcador panleucocitário, assim nesse processo houve a exclusão das células hematopoiéticas)
- dentro da população CD45⁻ foram selecionadas as células CD34⁺ (marcador de células precursoras)
- na população CD45⁻CD34⁺ foi identificada a população CD31⁺ (marcador da linhagem endotelial)
- na população CD45⁻CD34⁺CD31⁺ foram selecionadas as células CD133/2⁺ (marcador de células progenitoras endoteliais)

- dentro da população $CD45^-CD34^+CD31^+CD133/2^+$ foram selecionadas as células $CD309^+$ (marcador de células progenitoras endoteliais em estágio mais precoce)
- posteriormente foi conferida a população $CD45^-CD34^+CD31^+CD133/2^+CD309^+$
- finalmente, retornou-se com todas as células excluídas anteriormente e foi verificado o percentual relativo ao total da amostra leucocitária que corresponde a CPE.

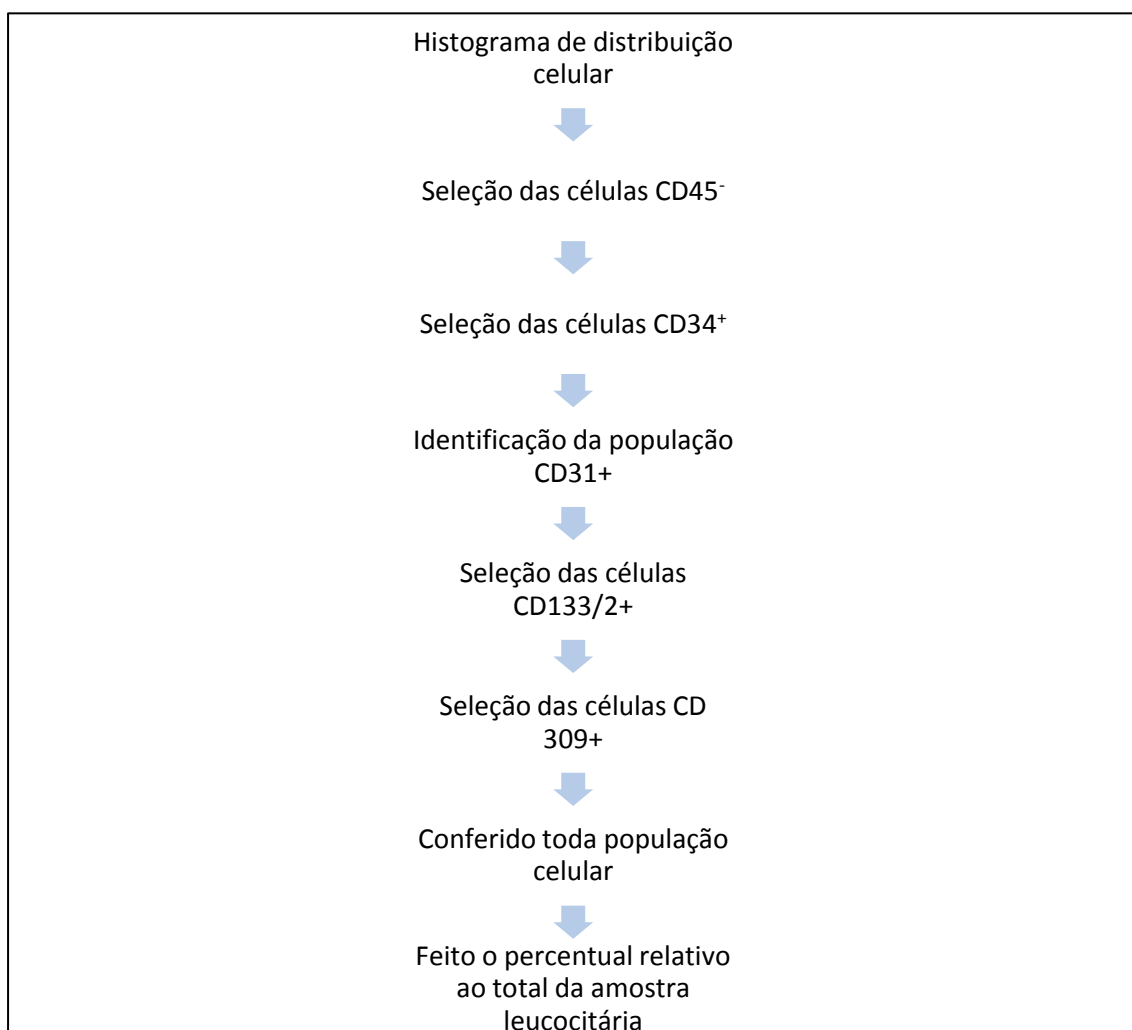


Figura 1: Fluxograma demonstrando o processo de identificação das células progenitoras endoteliais

5.7 INTERVENÇÃO CORONARIANA PERCUTÂNEA

A coronariografia foi realizada por via femoral ou radial, com técnicas convencionais. Em todos os casos houve implante bem-sucedido de *stent* convencional, farmacológico ou ambos, segundo critério da equipe de hemodinâmica.

5.8 ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES

Todos os pacientes foram acompanhados pelo pesquisador principal no próprio INC, em consultas regulares pré-agendadas a cada 3 meses até completar 1 ano, nas quais eram avaliados sintomas cardiovasculares, medicações em uso e exames solicitados pelo médico assistente. A figura 2 resume o desenho do estudo.

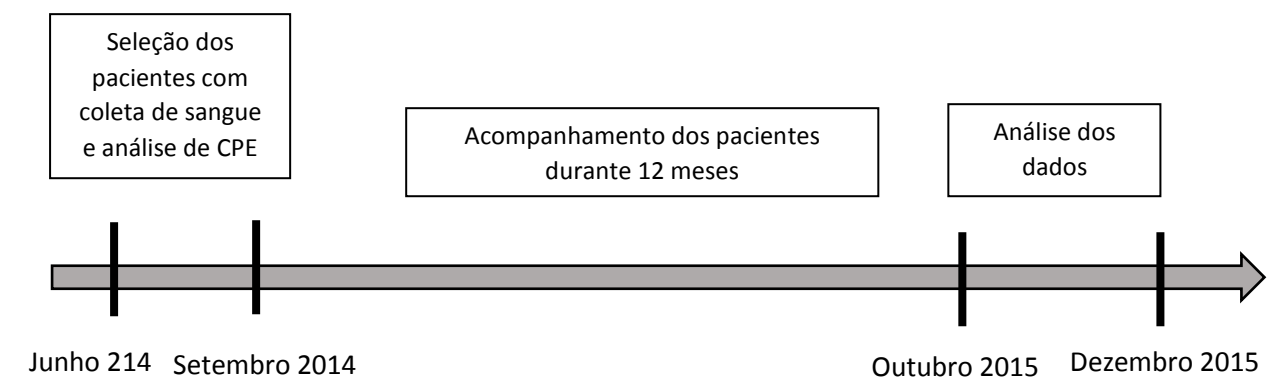


Figura 2: Desenho do estudo

5.9 DESFECHOS ANALISADOS

Foram avaliados durante o seguimento a ocorrência de:

- síndrome coronariana aguda (definida através da história clínica ou presença de alterações eletrocardiográficas ou enzimáticas compatíveis)⁴⁸
- angina típica (definida como dor retroesternal do tipo queimação ou aperto, cuja intensidade piora com atividade física ou estresse e melhora com repouso ou após uso de nitrato) associado a isquemia demonstrada em exame de cintilografia

miocárdica sob estresse físico ou farmacológico⁴⁹ em território compatível com o vaso previamente abordado.

- equivalente anginoso (dispnéia, fadiga, lipotimia ou síncope) associado a isquemia demonstrada em exame de cintilografia miocárdica sob estresse físico ou farmacológico em território compatível com o vaso previamente abordado.

- angina típica ou equivalente anginoso sem a realização de cintilografia miocárdica, incluindo os pacientes que não foram submetidos a testes provocativos ou que realizaram outros testes como ecocardiograma de estresse ou teste ergométrico.

- reestenose em novo exame de coronariografia, definida como a redução do diâmetro do lúmen arterial em mais de 50% no local onde foi implantado o *stent*

- óbito por qualquer causa

- necessidade de nova revascularização (cirúrgica ou percutânea) do vaso previamente abordado

O desfecho primário do estudo foi considerado como a ocorrência de reestenose em novo exame de coronariografia ou angina típica ou equivalente anginoso associado a cintilografia miocárdica demonstrando isquemia no território do vaso previamente abordado, ou ainda a necessidade de nova revascularização do vaso previamente abordado.

O desfecho secundário foi considerado a ocorrência de angina típica ou equivalente anginoso sem documentação por imagem, óbito por qualquer causa ou síndrome coronariana aguda (SCA).

5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Variáveis categóricas foram expressas como número absoluto e percentual e comparadas através do teste exato de Fisher. Variáveis contínuas foram descritas como média ou mediana, bem como percentis, e comparadas pelo teste de Mann-Whitney. O teste de Spearman foi utilizado para a correlação entre variáveis contínuas. Utilizou-se o programa estatístico R commander (Lucent Technologies,

Murray Hill, NY, EUA). Em todas as análises, um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

5.11 ASPECTOS ÉTICOS

O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) sob número 27615914.9.0000.5272 (anexo 1)

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS

Sessenta e três pacientes foram recrutados entre junho e setembro de 2014 para o estudo. Destes, dez pacientes não tiveram amostra de sangue coletada e um paciente apresentou fibrilação atrial após o procedimento, não tendo recebido alta no dia seguinte ao mesmo, sendo excluído. Dessa forma, cinquenta e dois pacientes participaram do estudo.

A amostra de sangue dos pacientes pré-angioplastia foi coletada pela manhã antes do procedimento e a amostra de sangue pós-angioplastia foi coletada entre 12 e 16 horas após o procedimento. Dos cinquenta e dois participantes, apenas um paciente não teve o sangue colhido antes do procedimento, 43 pacientes tiveram mostra de sangue colhida após procedimento e 42 pacientes tiveram amostra de sangue colhida antes e após a angioplastia.

Durante os doze meses de acompanhamento, seis pacientes (11%) foram perdidos no acompanhamento finalizando o trabalho com 46 pacientes. A figura 3 resume a inclusão dos pacientes no estudo.

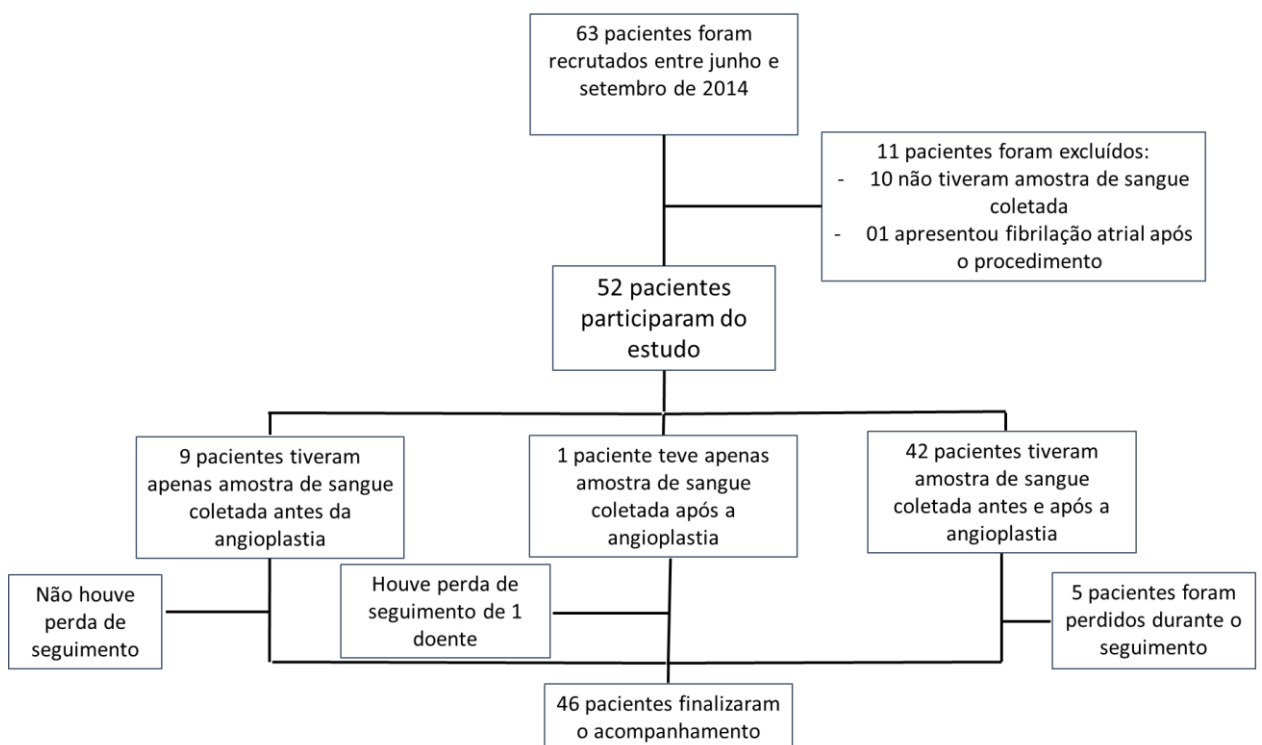


Figura 3: Fluxograma de seleção dos pacientes

Dentre os fatores de risco cardiovascular analisados, o mais frequente foi hipertensão, em 88% dos pacientes, seguido por tabagismo. Um terço dos pacientes tinha diagnóstico de diabetes, sendo que nenhum paciente estava em uso de terapia insulínica durante o acompanhamento. Quase metade dos pacientes tinha história de infarto do miocárdio prévio e 43% dos pacientes tiveram algum tipo de revascularização prévia, seja cirúrgica ou percutânea.

Em relação às medicações, aspirina foi utilizada na quase totalidade dos pacientes (90%). Em 64,7% dos casos havia uso de clopidogrel, muito relacionado aos pacientes com infarto do miocárdio e revascularização prévia. Houve um alto uso de estatina e beta-bloqueador, em mais de 80% dos casos, assim como IECA ou BRA em mais de dois terços dos pacientes.

Em relação aos dados angiográficos, houve um equilíbrio entre o número de pacientes com doenças coronarianas univascular e bivascular, com um menor número de trivasculares.

Todos os pacientes foram submetidos a angioplastia com implante de *stent*, sendo em mais da metade dos casos *stent* convencional. A principal via de acesso foi a radial, seguida pela via femoral, com apenas um paciente submetido a angioplastia pela via braquial. A mediana de vasos abordados por procedimento foi de 1,0 e a mediana de *stents* por procedimento também foi de 1,0, com maior número de *stents* e vasos abordados num paciente classificado como bivascular, tratado de 3 lesões com implante de 5 *stents* no total. Na avaliação do número total de lesões na coronariografia, a mediana foi 3 com máximo de 6 lesões em dois pacientes. As características demográficas e clínicas dos pacientes estão resumidas na tabela 2.

Tabela 2: Características demográficas e clínicas

Variável	n (%) ou média (±desvio padrão) ou mediana (mínimo – máximo)
Idade (anos)	64 (±8,9)
Fatores de Risco (n=51)	
Hipertensão	45 (88,2%)
Diabetes	15 (29,4%)
Obesidade	9 (19,1%)
Tabagismo ativo	6 (12,0%)
Tabagismo prévio	33 (64,7%)
Insuficiência renal crônica	6 (9,6%)
IAM com menos de 90 dias antes da angioplastia	5 (9,8%)
IAM com mais de 90 dias da angioplastia	20 (39,2%)
Angioplastia prévia	18 (35,3%)
CRVM prévia	4 (7,8%)
Medicações em uso (n=51)	
Aspirina	46 (90,2%)
Clopidogrel	33 (64,7%)
IECA	11 (21,6%)
BRA	24 (47,1%)
Beta-bloqueador	42 (82,4%)
Estatina	43 (84,3%)
Dados angiográficos (n=44)	
Univascular	15 (34,1%)
Bivascular	16 (36,4%)
Trivascular	13 (29,5%)
Número de lesões	3 (1 – 6)
Tipo de stent (n=52)	
Convencional	27 (51,9%)
Farmacológico	22 (42,3%)
Ambos	3 (5,8%)
Número de stents por procedimento	1 (1 – 5)

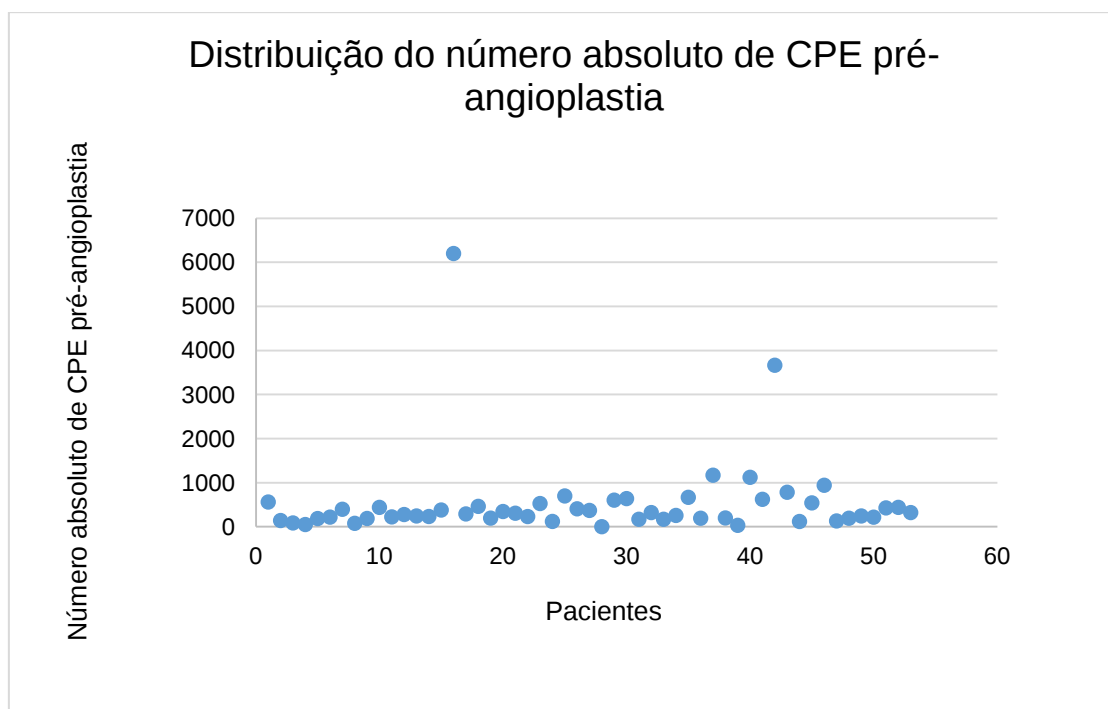
IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA= bloqueador do receptor de angiotensina

6.2 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS

O leucograma pré-angioplastia foi obtido em 52 pacientes. A contagem de leucócitos média foi de 7932 cel/mcl, variando de 3100 a 14600 cel/mcl. O número médio de CPE foi de 538 cel/mcl. A distribuição dos valores de CPE pré-angioplastia está demonstrada na figura 4.

A avaliação do leucograma pós-angioplastia foi realizada em 44 pacientes apresentando contagem de leucócitos média de 7840 cel/mcl com variação entre 2500 e 13000 cel/mcl. O número médio de CPE no pós-angioplastia foi de 420 cel/mcl. A distribuição dos valores de CPE pós-angioplastia está demonstrada na figura 5.

Quarenta e três pacientes tiveram seu número absoluto de CPE avaliado tanto antes como após o procedimento de angioplastia. Nesse grupo foi avaliada a relação entre o número de CPE pré e pós-angioplastia, como demonstrado na figura 6. Vinte e seis pacientes (62%) tiveram uma redução no número absoluto de CPE após a angioplastia. Em contrapartida, 16 pacientes (38%) tiveram aumento do número de CPE após a angioplastia. A figura 7 demonstra o comportamento, de elevação ou queda no número de CPE, antes e após o procedimento.



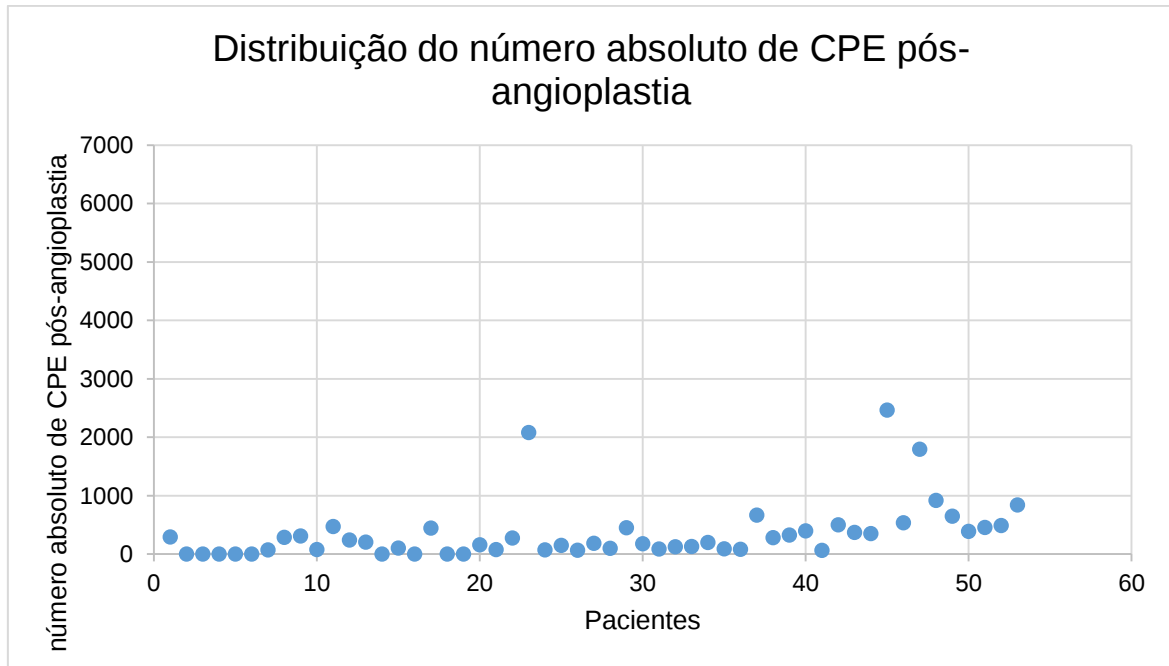


Figura 5: Distribuição do número absoluto de CPE pós-angioplastia

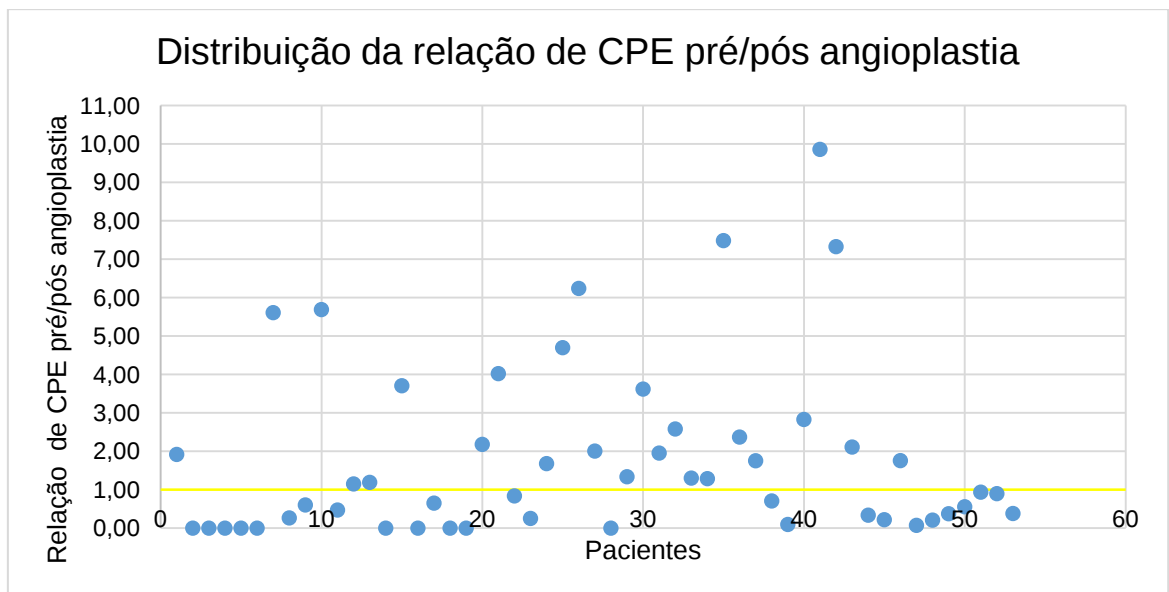


Figura 6: Distribuição da relação CPE pré-angioplastia/pós angioplastia

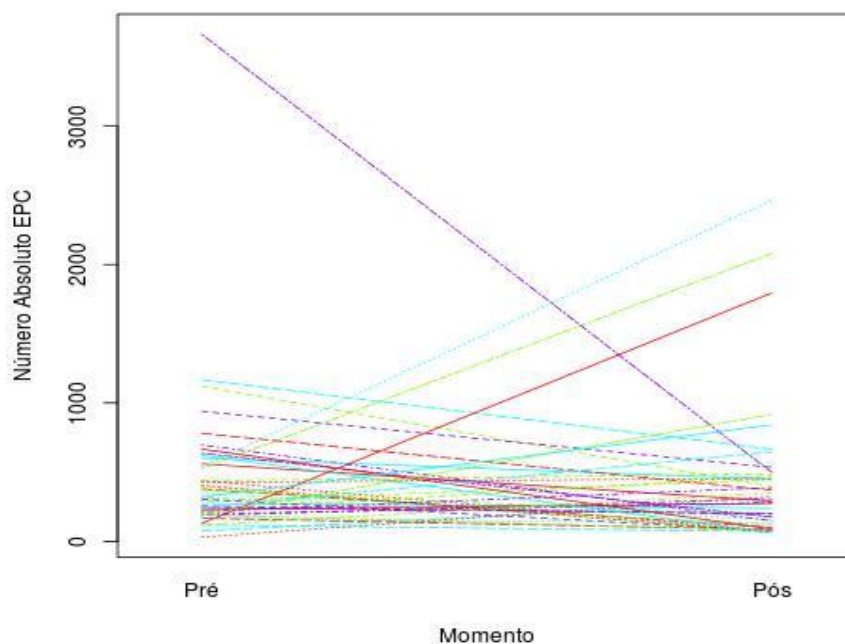


Figura 7: Comportamento das CPE antes e após a angioplastia

6.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE CPE E VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS

Foi avaliada a associação entre as variáveis demográficas e clínicas e a contagem de CPE antes do procedimento, após o procedimento e sua relação pré/pós angioplastia, conforme demonstrado nas tabelas 3, 4 e 5.

Pacientes em uso de clopidogrel apresentaram número de CPE pré-angioplastia significativamente maior do que aqueles sem uso dessa droga (tabela 3). Não foi observada qualquer outra associação entre fatores de risco cardiovascular, outros medicamentos em uso, IAM ou CRVM prévios e as CPE pré-angioplastia.

Quanto às CPE pós-angioplastia, houve associação significativa entre uso de beta-bloqueador e maior número de CPE (tabela 4), também sem outras associações significativas com outras variáveis.

Para a relação CPE pré/pós-angioplastia, foi observada associação significativa com uso de BRA, e tendências de associação com idade, diabetes, IAM

recente (menos de 90 dias antes da angioplastia), uso de clopidogrel e beta-bloqueador (tabela 5). No caso de idade, diabetes, uso de clopidogrel e beta-bloqueador, a relação pré/pós >1 indica uma redução do número de EPC pós-angioplastia; já para pacientes com IAM há menos de 90 dias, a relação <1 mostra que houve aumento das CPE pós-procedimento.

Tabela 3: Variáveis demográficas e clínicas e CPE pré angioplastia

Variáveis demográficas	Mediana CPE pré (p25-p75)	p
Idade > 60 anos (n=34)	344 (202 – 616)	0,08
Idade < 60 anos (n=17)	259 (137 – 364)	
Hipertensão (n=45)	280 (185 – 533)	0,52
Sem hipertensão (n=6)	329 (279 – 420)	
Diabetes (n=15)	344 (207 – 651)	0,25
Sem diabetes (n= 36)	276 (185 – 432)	
Tabagismo ativo (n=6)	286 (105 – 495)	0,41
Sem tabagismo ativo (n=45)	305 (193 – 531)	
Tabagismo prévio (n=33)	320 (194 – 602)	0,23
Sem tabagismo prévio (n=18)	224 (127 – 459)	
Insuficiência renal crônica (n=6)	194 (184 – 438)	0,55
Sem insuficiência renal crônica (n=45)	312 (193 – 536)	
IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=5)	438 (168 – 460)	0,88
Sem IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=46)	289 (192 – 560)	
IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=20)	290 (211 – 570)	0,50
Sem IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=31)	304 (168 – 455)	
Angioplastia prévia (n=18)	297 (201 – 396)	0,62
Sem Angioplastia prévia (n= 33)	298 (190 – 575)	
CRVM prévia (n=4)	320 (312 – 349)	0,74
Sem CRVM prévia (n=47)	276 (189 – 542)	
Aspirina (n=46)	305 (186 – 460)	0,57
Sem aspirina (n=5)	222 (217 – 666)	
Clopidogrel (n=33)	356 (220 – 606)	0,04
Sem clopidogrel (n=18)	205 (139 – 399)	
IECA (n=11)	214 (172 – 298)	0,13
Sem IECA (n=40)	332 (197 – 570)	
BRA (n=24)	361 (210 – 625)	0,34
Sem BRA (n=27)	259 (184 – 455)	
Beta-bloqueador (n=42)	289 (192 – 560)	0,52
Sem beta-bloqueador (n=9)	305 (168 – 395)	
Estatina (n=43)	265 (187 – 455)	0,39
Sem estatina (n=8)	332 (297 – 553)	

IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA= bloqueador do receptor de angiotensina; CPE=células progenitoras endoteliais

Tabela 4: Variáveis demográficas e clínicas e CPE pós angioplastia

Variáveis demográficas	Mediana CPE pós (p25-p75)	p
Idade > 60 anos (n=34)	204 (113 – 460)	0,70
Idade < 60 anos (n=17)	325 (92 – 546)	
Hipertensão (n=45)	280 (98 – 45)	0,42
Sem hipertensão (n=6)	370 (240 – 444)	
Diabetes (n=15)	167 (115 – 302)	0,27
Sem diabetes (n= 36)	317 (108 – 467)	
Tabagismo ativo (n=6)	285 (86-291)	0,72
Sem tabagismo ativo (n=45)	260 (118 – 451)	
Tabagismo prévio (n=33)	325 (158 – 455)	0,16
Sem tabagismo prévio (n=18)	136 (83 – 287)	
Insuficiência renal crônica (n=6)	488 (386 – 511)	0,21
Sem insuficiência renal crônica (n=45)	260 (101 – 451)	
IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=5)	386 (246 – 886)	0,28
Sem IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=46)	260 (99 – 448)	
IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=20)	280 (158 – 471)	0,59
Sem IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=31)	285 (89 – 444)	
Angioplastia prévia (n=18)	204 (153 – 452)	0,96
Sem Angioplastia prévia (n= 33)	285 (100 – 442)	
CRVM prévia (n=4)	100 (92 – 286)	0,36
Sem CRVM prévia (n=47)	288 (133 – 453)	
Aspirina (n=46)	282 (118 – 451)	0,95
Sem aspirina (n=5)	280 (184 – 375)	
Clopidogrel (n=33)	240 (124 – 396)	0,27
Sem clopidogrel (n=18)	309 (89 – 648)	
IECA (n=11)	240 (98 – 309)	0,65
Sem IECA (n=40)	291 (124 – 471)	
BRA (n=24)	158 (81- 455)	0,12
Sem BRA (n=27)	309 (204 – 450)	
Beta-bloqueador (n=42)	329 (162 – 483)	0,003
Sem beta-bloqueador (n=9)	81 (74 – 136)	
Estatina (n=43)	291 (115 – 452)	0,74
Sem estatina (n=8)	158 (106 – 508)	

IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA= bloqueador do receptor de angiotensina; CPE=células progenitoras endoteliais

Tabela 5: Variáveis demográficas e relação CPE pré/pós angioplastia

Variáveis demográficas	Mediana da relação CPE pré/pós (p25-p75))	p
Idade > 60 anos (n=34)	1,75 (1,0 – 3,1)	0,05
Idade < 60 anos (n=17)	0,37 (0,17 – 0,37)	
Hipertensão (n=45)	1,71 (0,54 – 3,64)	0,69
Sem hipertensão (n=6)	1,15 (0,90 – 2,01)	
Diabetes (n=15)	2,28 (1,64 – 3,89)	0,06
Sem diabetes (n= 36)	1,19 (0,47 – 2,01)	
Tabagismo ativo (n=6)	1,92 (0,27 – 1,95)	0,69
Sem tabagismo ativo (n=45)	1,68 (0,68 – 3,23)	
Tabagismo prévio (n=33)	1,34 (0,65 – 2,83)	0,98
Sem tabagismo prévio (n=18)	1,92 (0,49 – 3,64)	
Insuficiência renal crônica (n=6)	0,90 (0,58 – 1,33)	0,34
Sem insuficiência renal crônica (n=45)	1,68 (0,58 – 3,23)	
IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=5)	0,58 (0,27 – 1,0)	0,06
Sem IAM ≤ 90 dias antes da angioplastia (n=46)	1,76 (0,65 – 3,62)	
IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=20)	1,76 (0,71 – 3,62)	0,55
Sem IAM ≥ 90 dias da angioplastia (n=31)	1,49 (0,54 – 2,49)	
Angioplastia prévia (n=18)	1,34 (0,56 – 2,90)	0,71
Sem Angioplastia prévia (n= 33)	1,75 (0,63 – 2,77)	
CRVM prévia (n=4)	3,71(2,04 – 3,86)	0,56
Sem CRVM prévia (n=47)	1,51 (0,61 – 2,53)	
Aspirina (n=46)	1,68 (0,62 – 2,71)	0,67
Sem aspirina (n=5)	3,98 (2,22 – 5,73)	
Clopidogrel (n=33)	1,96 (0,85 – 3,79)	0,06
Sem clopidogrel (n=18)	0,94 (0,38 – 1,76)	
IECA (n=11)	1,17 (0,52 – 2,17)	0,41
Sem IECA (n=40)	1,75 (0,65 – 3,62)	
BRA (n=24)	2,37 (0,94 – 5,61)	0,04
Sem BRA (n=27)	1,17 (0,54 – 1,93)	
Beta-bloqueador (n=42)	1,30 (0,56 – 2,18)	0,06
Sem beta-bloqueador (n=9)	3,86 (1,75 – 5,63)	
Estatina (n=43)	1,32 (0,61 – 2,71)	0,49
Sem estatina (n=8)	2,18 (1,17 – 3,10)	

IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA= bloqueador do receptor de angiotensina; CPE=células progenitoras endoteliais

Por fim, correlacionou-se o número de stents utilizados por procedimento com o número de CPE (tabela 6) pré e pós angioplastia, sem que houvesse, porém, significância estatística.

Tabela 6: Associação entre número de stents por procedimento e CPE

Número de stents x	rho	p
CPE pré angioplastia	-0,05	0,73
CPE pós angioplastia	0,16	0,31
CPE pré/pós angioplastia	-0,03	0,80

CPE=células progenitoras endoteliais

6.4 DESFECHOS

O desfecho primário ocorreu em 13,0% dos participantes e o desfecho secundário em 37,0%. Nenhum paciente necessitou de nova revascularização do vaso previamente abordado. Quatro pacientes repetiram a coronariografia durante o período de acompanhamento. Em três pacientes identificou-se reestenose sendo que dois apresentaram angina típica ou equivalente anginoso, porém não foram submetidos a nenhuma estratificação não invasiva e 1 paciente apresentou SCA. Este último paciente apresentou diagnóstico de novas lesões coronarianas, porém com *stent* previamente implantado pérvio. Dois pacientes foram submetidos a cintilografia miocárdica durante o acompanhamento, a critério do médico assistente; destes, um não apresentava isquemia, mas apenas fibrose, encontrando-se assintomático, e no outro havia isquemia em território compatível com o local da abordagem percutânea prévia.

Dentre os desfechos secundários, angina ou equivalente anginoso sem imagem foram os mais frequentes. Houve 2 óbitos, sendo um decorrente de hematoma subdural e outro sem causa esclarecida. Nos pacientes com SCA dois apresentaram angina instável e 1 paciente evoluiu com IAM sem supradesnívelamento do segmento ST (tabela 8).

Tabela 7: Desfechos

	n (%)
Desfecho primário	4 (8,7%)
Necessidade de nova revascularização	0 (0%)
Reestenose em nova coronariografia	3 (6,5%)
Angina ou equivalente anginoso com cintilografia miocárdica demonstrando isquemia	1 (2,2%)
Desfecho secundário	17 (37,0%)
Angina ou equivalente anginoso sem cintilografia miocárdica	12 (26,1%)
SCA	3 (6,5%)
Óbito por qualquer causa	2 (4,3%)

SCA = Síndrome Coronariana Aguda

6.4.1 ASSOCIAÇÃO ENTRE DESFECHOS, CPE E VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS

Foram avaliadas as associações entre os desfechos e as CPE antes da angioplastia, após o procedimento, e sua relação pré/pós angioplastia.

A tabela 8 mostra a associação entre CPE pré-angioplastia e os desfechos primário e secundário. Apesar da mediana de CPE ser maior nos pacientes que apresentaram os desfechos, não houve significância estatística.

Tabela 8: Associação entre desfechos e número de CPE pré angioplastia

Variáveis	Mediana de CPE (p25-p75)	p
Desfecho primário (n=4)	310 (230 – 442)	0,668
Sem desfecho primário (n=42)	249 (180 – 443)	
Desfecho secundário (n=17)	344 (211 – 529)	0,328
Sem desfecho secundário (n=29)	222 (184 -438)	

CPE=células progenitoras endoteliais

Em seguida, foram comparados os desfechos com as CPE pós angioplastia, como demonstrado na tabela 9. Nenhum dos desfechos apresentou associação estatisticamente significativa com o número de CPE pós angioplastia. Todavia, observa-se, assim como na análise das CPE pré-angioplastia, que os pacientes com desfecho tanto primário quanto secundário apresentaram uma mediana de CPE maior.

Tabela 9: Associação entre desfechos e número de CPE pós angioplastia

Variáveis	Mediana de CPE (p25-p75)	<i>p</i>
Desfecho primário (n=4)	412 (157 – 715)	0,46
Sem desfecho primário (39)	285 (124 – 450)	
Desfecho secundário (n=15)	383 (108 – 611)	0,34
Sem desfecho secundário (n= 28)	280 (136 – 369)	

CPE=células progenitoras endoteliais

Por fim, avaliou-se a associação entre a relação do número de CPE pré/pós angioplastia com os desfechos (tabela 10). A mediana da relação CPE pré/pós >1 mostra que nos pacientes com desfecho houve redução na quantidade de CPE pós angioplastia, porém novamente sem significância estatística.

Tabela 10: Associação entre desfechos e número de CPE pré/pós angioplastia

Variáveis	Mediana de CPE (p25-p75)	<i>p</i>
Desfecho primário (n=4)	2,00 (0,34 – 3,64)	0,80
Sem desfecho primário (n=39)	1,51 (0,68 – 2,42)	
Desfecho secundário (n=15)	2,11 (0,38 – 3,71)	0,57
Sem desfecho secundário (n=28)	1,34 (0,66 – 2,16)	

CPE= células progenitoras endoteliais

Foram ainda avaliadas as associações entre variáveis demográficas e clínicas e os desfechos primário e secundário (tabelas 11 e 12), sendo que nenhuma apresentou associação estatisticamente significativa.

Tabela 11: Associação entre variáveis clínicas e demográficas e o desfecho primário

Fatores de Risco	Sem desfecho primário N (%)	Com desfecho primário N (%)	p
HAS	36 (85,7%)	6 (14,3%)	1
DM	13 (86,6%)	2 (13,4%)	1
Obesidade	8 (88,8%)	1 (11,2%)	1
Tabagismo corrente	5 (100%)	0 (0%)	1
Tabagismo prévio	25 (83,3%)	5 (16,7%)	0,64
IRC	5 (100%)	0 (0%)	1
IAM com menos de 90 dias antes da angioplastia	4 (100%)	0 (0%)	1
IAM com mais de 90 dias da angioplastia	16 (84,2%)	3 (15,8%)	0,68
Angioplastia prévia	14 (93,3%)	1 (6,7%)	0,64
CRVM prévia	1 (50%)	1 (50%)	0,24
Aspirina	36 (87,8%)	5 (12,2%)	0,52
Clopidogrel	25 (86,2%)	4 (13,8%)	1
IECA	8 (100%)	0 (0%)	0,57
BRA	19 (79,1%)	5 (20,9%)	0,19
Beta-bloqueador	34 (89,4%)	4 (10,6%)	0,27
Estatina	35 (89,7%)	4 (10,3%)	0,22
Metformina	11 (84,6%)	2 (15,4%)	1
Univascular	12 (92,3%)	1 (7,7%)	0,65
Bivascular	12 (80%)	3 (20%)	0,65
Trivascular	10 (83,3%)	2 (16,7%)	1
Convencional	22 (88%)	3 (12%)	0,79
Farmacológico	15 (83,3%)	3 (16,7%)	
Ambos	3 (100%)	0 (0%)	

HAS = Hipertensão arterial sistêmica; DM= diabetes mellitus; IRC=insuficiência renal crônica; IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA=bloqueador do receptor de angiotensina

Tabela 12: Associação entre variáveis clínicas e demográficas e o desfecho secundário

Fatores de Risco	Sem desfecho secundário	Com desfecho secundário	<i>p</i>
HAS	29 (69%)	13 (31%)	1
DM	10 (66,6%)	5 (33,4%)	1
Obesidade	5 (55,5%)	4 (44,5%)	0,40
Tabagismo corrente	5 (100%)	0 (0%)	0,30
Tabagismo prévio	19 (65,5%)	10 (34,5%)	0,32
IRC	5 (100%)	0 (0%)	0,30
IAM com menos de 90 dias antes da angioplastia	3 (75%)	1 (25%)	1
IAM com mais de 90 dias da angioplastia	15 (79,0%)	4 (21,0%)	0,33
Angioplastia prévia	10 (66,6%)	5 (33,4%)	1
CRVM prévia	0 (0%)	2 (100%)	0,08
Aspirina	27 (65,8%)	14 (34,2%)	0,30
Clopidogrel	20 (69,0)	9 (31,0%)	1
IECA	6 (75,0%)	2 (25,0%)	1
BRA	17 (70,8%)	7 (29,2%)	1
Beta-bloqueador	26 (68,4%)	12 (31,6%)	1
Estatina	28 (71,7%)	11 (28,3%)	0,65
Metformina	8 (61,5%)	5 (38,5%)	0,50
Univascular	9 (69,2%)	4 (30,8%)	1
Bivascular	12 (80,0%)	3 (20,0%)	0,47
Trivascular	7 (58,3%)	5 (41,7%)	0,45
Convencional	16 (64,0%)	9 (36,0%)	0,68
Farmacológico	14 (77,7%)	4 (22,3%)	
Ambos	2 (66,6%)	1 (33,4%)	

HAS = Hipertensão arterial sistêmica; DM= diabetes mellitus; IRC=insuficiência renal crônica; IAM=infarto agudo do miocárdio; CRVM=cirurgia de revascularização do miocárdio; IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA=bloqueador do receptor de angiotensina

7 DISCUSSÃO

O tratamento da doença coronariana, a despeito de todo o desenvolvimento dos últimos anos, continua sendo um desafio. A angioplastia coronariana percutânea constituiu um grande avanço para o tratamento da DAC, permitindo a revascularização do miocárdio isquêmico sem a necessidade de cirurgia. Todavia, como qualquer tipo de intervenção, possui limitações e possíveis complicações que podem levar à perda ou redução dos benefícios por ela proporcionados. Nesse sentido, a reestenose coronariana pós-angioplastia é uma das principais limitações desse procedimento, podendo levar a reestenose clínica em 10 a 20% dos pacientes após implante de *stent* convencional e 3 a 5% após *stent* farmacológico⁵⁰. Assim, a fisiopatologia da reestenose é objeto de grande interesse, e tem sido estudada em seus vários mecanismos, especialmente no nível celular.

Nesse âmbito, as CPE são potencialmente relevantes devido ao seu papel na integridade e função endotelial assim como na neovascularização. Os estudos das CPE na reestenose pós angioplastia têm sido em sua maioria pequenos e controversos até o momento⁴⁴. Dessa forma, permanece a importância do estudo das CPE no cenário da angioplastia coronariana, com foco nos seus possíveis efeitos sobre a reestenose.

Inicialmente, é importante ressaltar que existe grande dificuldade em comparar os trabalhos analisados devido à forma de identificação das CPE. Não existe um único critério para identificação das CPE, e dependendo do tipo celular, a sua mobilização após o procedimento pode ser diferente⁵¹. Quando Asahara primeiro isolou essas células do sangue periférico, utilizou como marcador o CD34+ para definir uma população de células progenitoras hematopoiéticas capazes de se diferenciar em células com características endoteliais¹⁹. Inicialmente as CPE foram identificadas como células positivas tanto para marcadores de células progenitoras hematopoiéticas quanto marcadores de células endoteliais como CD34 e o receptor-2 do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGFR-2) também conhecido receptor do domínio kinase (KDR)⁴⁴. Posteriormente identificou-se que o antígeno CD34 tinha uma densidade alta em células progenitoras diminuindo progressivamente com a maturação celular, porém ainda podendo ser expresso em

células endoteliais maduras⁵². Assim, um marcador de células mais imaturas começou a ser adotado, o CD133⁵³. Esse marcador é expresso em células tronco hematopoiéticas e células progenitoras de medula óssea, fígado fetal e sangue periférico. A medida que as células progenitoras se desenvolvem para células endoteliais maduras existe uma redução progressiva nesse marcador⁵⁴. A combinação CD34, CD133 e KDR é comumente utilizada para identificar essa linhagem precursora de células endoteliais⁴⁵. Essa mudança na identificação das CPE pode ser observada ao longo do tempo como no trabalho de Werner²⁴ cuja identificação foi feita pela expressão do CD34 e KDR enquanto trabalhos mais recentes como o de Pellicia⁴² incorporaram o marcador CD133. Pellicia *et al* ainda demonstrou no acompanhamento de 5 anos dos pacientes pós angioplastia que dependendo do tipo de marcador estudado, a subpopulação de células pode ter ou não relação com eventos cardiovasculares⁴². Assim torna-se difícil uma plena comparação entre os diversos trabalhos na literatura. Neste estudo, foram avaliadas as CPE com marcador CD34⁺CD133⁺/KDR⁺, uma subpopulação mais imatura de células progenitoras.

Não foram encontradas associações significativas entre CPE pré e pós-angioplastia e fatores de risco cardiovasculares, mas houve uma associação significativa entre uso de clopidogrel e maior número de CPE pré-angioplastia, e entre uso de beta-bloqueador e maior número de CPE pós-angioplastia. Já para a relação CPE pré/pós angioplastia, houve associação significativa com BRA, apresentando queda no número de CPE no período pós angioplastia. Também foram observadas tendências de associação com idade, diabetes, IAM recente (menos de 90 dias antes da angioplastia), uso de clopidogrel e beta-bloqueador, semelhante ao descrito na literatura.

No caso de diabetes, a relação pré/pós >1 indica uma redução do número de EPC pós-angioplastia, como descrito por Lee *et al*, que observaram uma redução no número de CPE após angioplastia em pacientes diabéticos⁵⁵. Diabetes é um fator de risco cardiovascular com grande influência nas CPE, com redução na quantidade absoluta de células e na sua funcionalidade⁵⁶. Fadini *et al* demonstraram uma redução na capacidade de mobilização das CPE da medula óssea tanto em pacientes diabéticos tipo 1 quanto 2⁵⁷. Da mesma forma, no trabalho de Loomans *et*

al, em diabéticos tipo 1, demonstrou-se uma redução na quantidade e funcionalidade das CPE⁵⁸.

Já para pacientes com IAM há menos de 90 dias, a relação <1 mostra que houve aumento das CPE pós-procedimento. Um importante fator de mobilização das CPE é a síndrome coronariana aguda. Shintani *et al* demonstraram uma elevação na quantidade de CPE com pico em 7 dias após o IAM⁵⁹. Massa *et al* confirmaram esse aumento de CPE logo após o evento isquêmico agudo com queda progressiva após 7 dias e normalização após 2 meses⁶⁰. Regueiro *et al*, por sua vez, realizaram um trabalho maior acompanhando a contagem de CPE até 6 meses após o SCA, demonstrando uma elevação das CPE, com pico em 30 dias, mantendo-se níveis mais altos que o basal até 6 meses após o evento agudo⁶¹. Por essa razão, alguns trabalhos como os de Gao *et al*, Thomas *et al* e Mills *et al* excluíram pacientes com SCA prévia^{50,62,63}.

É importante notar que diversas medicações possuem efeitos sobre as CPE. Vasa *et al* demonstraram que pacientes com doença coronariana estável submetidos a terapia com estatina apresentavam uma elevação na quantidade de CPE dentro de 4 semanas⁶⁴. Eisen *et al* compararam alta dose com baixa dose de atorvastatina antes da ICP observando níveis mais elevados de CPE antes da angioplastia no grupo com alta dose posteriormente igualando-se após a angioplastia⁶⁵. Por esse efeito alguns trabalhos como o de Pellicia⁴² excluíram pacientes previamente em uso de estatina. Neste trabalho, a maioria dos pacientes se encontrava em uso de estatina, mas não se observou associação entre a droga e o número de CPE pré ou pós-angioplastia. A aspirina já foi apontada como causadora de redução no número de CPE, adesão, proliferação e capacidade migratória^{66,67}. Neste trabalho, a aspirina não apresentou associação com número de CPE antes ou após a angioplastia.

Assim como as estatinas e a aspirina, os IECA, BRA e o clopidogrel também influenciam a contagem de CPE. Bahlmann *et al* demonstraram que tanto a ibersatana quanto a olmerstana aumentaram a quantidade de CPE em pacientes diabéticos⁶⁸. Pelliccia *et al* confirmaram que a telmisartana aumentou o número de CPE e melhorou a função endotelial em pacientes com doença coronariana⁶⁹. Muller *et al* demonstraram um aumento na quantidade de CPE com os IECA⁷⁰. França *et al*

também demonstraram a influência do clopidogrel na mobilização das CPE⁷¹. No presente trabalho, houve associação entre uso de clopidogrel e maior número de CPE pré-angioplastia e de BRA e menor número de CPE pós-angioplastia.

Os beta-bloqueadores, por sua vez, ainda são pouco estudados em relação às CPE⁷². Yao *et al* demonstrou que o celiprolol aumentou o número e função das CPE⁷³. Neste estudo, o uso de beta-bloqueadores se associou com maior número de CPE pós-angioplastia.

Analisando os trabalhos em conjunto, é possível supor que drogas que aumentem o número de CPE pós angioplastia possam ter efeito benéfico para o paciente, como descrito quanto à melhora da função endotelial⁷⁰. No presente estudo, o pequeno número de pacientes pode ter levado a associações que não necessariamente reflitam a real fisiopatologia que envolve CPE e agressão endotelial, sendo necessário um maior número a fim de confirmar tais associações. Em contrapartida, o efeito de redução das CPE proporcionado pelo diabetes é consistente com o maior risco cardiovascular inerente a esta doença⁷⁴.

A idade também pode influenciar diretamente as CPE. Heiss *et al* demonstraram uma redução da funcionalidade das CPE em pacientes acima de 60 anos quando comparados com indivíduos de 20 anos⁷⁵. Vasa *et al* demonstraram uma redução nas células CD34⁺KDR⁺ com o aumento da idade²³ assim como Thum *et al* observaram uma redução nas células CD133⁺KDR⁺ ao comparar indivíduos mais jovens com mais idosos⁷⁶. Scheubel *et al*, ao avaliar pacientes com doença coronariana submetidos a CRVM, observou uma redução na quantidade de CPE com a idade que não podia ser explicado pela prevalência de outros fatores de risco⁷⁷. Neste trabalho, pacientes acima de 60 anos apresentaram uma tendência a redução do número de CPE após o procedimento de angioplastia.

A resposta das CPE ao trauma vascular proporcionado pela angioplastia tem se mostrado variável entre os diferentes estudos. Neste, observou-se um predomínio da redução do número de CPE pós-angioplastia, que ocorreu em 60% dos pacientes. É importante ressaltar que o momento da coleta de sangue para contagem da CPE após angioplastia pode influenciar diretamente os resultados. No trabalho atual, a coleta de sangue ocorreu nas primeiras 24 horas após angioplastia, sendo em sua grande maioria com cerca de 12 horas do procedimento, mas há

inúmeras diferenças na literatura. Tanto Gao *et al*⁵⁰ como Bonello *et al*⁴¹ demonstraram um aumento no número de CPE nas primeiras 6 horas após angioplastia, porém o comportamento ao longo das 24 horas foi variável. No trabalho de Gao *et al*, dependendo do subgrupo de CPE analisada (mais madura ou mais imatura) a sua mobilização da medula ocorreu em tempos distintos: houve redução das células CD133⁺KDR⁺ nas primeiras 5 horas após angioplastia, aumentando posteriormente, porém não retornando aos níveis pré-angioplastia após 24 horas. Nas células CD133⁺CD34⁺KDR⁺ houve um aumento nas primeiras 5 horas após angioplastia com progressiva redução após esse período⁵⁰. Inoue *et al*, por sua vez, avaliaram a mobilização de células CD34 após angioplastia eletiva de vaso único, demonstrando um aumento após 48 horas com pico em 7 dias após implante de *stent* convencional. O mesmo, entretanto, não se repetiu quando foram analisados pacientes com implante de *stent* farmacológico³⁸. Bonello *et al* avaliaram o número de CPE antes do procedimento, imediatamente após a angioplastia e em 6h, 24h, 48h e 7 dias após. Foi observado um aumento de CPE imediatamente após a angioplastia, atingindo o pico com 6 horas e retornando aos níveis pré-angioplastia somente após 7 dias⁴¹. Em contrapartida, Thomas *et al* avaliaram 20 pacientes submetidos a angioplastia eletiva. Em todas as subpopulações de CPE estudadas houve uma queda de 7-15% nas primeiras 6 horas após o procedimento, com posterior elevação até 24 horas sem que retornassem aos níveis basais antes da angioplastia⁶². Essa redução nos níveis de CPE também foi observada no trabalho de Lee *et al*, que avaliaram 8 pacientes diabéticos submetidos a angioplastia eletiva, observando redução dos níveis de CPE 1 e 4 horas após o procedimento, retornando gradativamente aos níveis basais em 24 horas. Apenas 1 paciente nesse trabalho apresentou elevação das CPE, sendo esse o único com aumento das enzimas cardíacas após o procedimento⁵⁵. Por fim, Mills *et al* ressaltam que as CPE circulantes (CD34⁺KDR⁺), mesmo podendo se diferenciar em células endoteliais, são raras no sangue periférico e não são mobilizadas rapidamente em resposta a um insulto vascular⁶³.

Neste trabalho, não houve associação estatisticamente significativa entre o número de CPE antes da angioplastia, após a mesma ou a relação pré/pós angioplastia com os desfechos cardiovasculares. Em contraste, no estudo de Pelliccia *et al* os pacientes com níveis mais elevados das subpopulações de células

CD34⁺KDR⁺CD45⁻ e CD133⁺KDR⁺CD45⁻ apresentaram maiores taxas de reestenose em 8 meses e de eventos cardiovasculares maiores (mortalidade por todas as causas, AVC, IAM e necessidade de nova revascularização) nos 5 anos de acompanhamento^{42,43}.

Alguns fatores podem ter contribuído para a ausência de associação entre CPE e desfechos neste estudo. O pequeno número da amostra e dos desfechos, assim como o tempo de seguimento relativamente curto (1 ano) já podem ter limitado a identificação dessas associações. Entretanto, dada a escassez de trabalhos, tem importância ao contribuir para o conhecimento sobre o assunto, fornecendo subsídios para novos estudos com populações maiores.

8 LIMITAÇÕES

O pequeno número de CPE no sangue periférico, a influência de múltiplos fatores sobre seu número e mobilização da medula óssea, bem como as diferenças na caracterização e identificação das CPE tornam difícil seu estudo e a comparação entre os diversos trabalhos na literatura. Outra dificuldade de comparação entre diferentes estudos consiste na avaliação do grau de injúria vascular após o procedimento de angioplastia. Gao *et al* mostraram uma correlação positiva entre a área de superfície do *stent*, a pressão máxima de insuflação do balão e o aumento nas CPE⁵⁰. Neste estudo, uma vez que não ocorreram complicações isquêmicas durante ou após o procedimento (as quais seriam critério de exclusão), é possível supor que injúria vascular significativa não tenha ocorrido de tal forma a influenciar as contagens das CPE após o procedimento. Além disso, embora não tenham sido avaliados a área de superfície do *stent* nem a pressão máxima de insuflação do balão, não houve correlação entre o número de *stents* implantados e o número de CPE. Contudo, como não houve avaliação da troponina pós angioplastia, fica impossibilitada a identificação dos pacientes que possam ter apresentado lesão miocárdica subclínica durante o procedimento.

Por questões éticas, pacientes assintomáticos não foram submetidos a exames de imagem cardiovascular de rotina, estando a sua solicitação a critério do médico assistente. O fato dos pacientes com angina não terem repetido sistematicamente a coronariografia impede o conhecimento da progressão de doença e da reestenose angiograficamente definidos.

Por último, a coleta de sangue foi realizada em apenas 1 momento após angioplastia, não sendo possível determinar a curva evolutiva do número de CPE ao longo do tempo

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

A compreensão do papel das CPE no reparo vascular permitiu o uso deste conceito na formulação de uma nova tecnologia de *stents*. O uso de anticorpos anti-CD34 na superfície do *stent* permite a colonização das CPE na estrutura do *stent* acelerando a reendotelização do segmento arterial⁷⁸. Em teoria, esses dispositivos seriam capazes de capturar as CPE circulantes, que se desenvolveriam em células endoteliais maduras cobrindo a estrutura do *stent* e levando a menor incidência de reestenose e trombose, assim como reduzindo a necessidade da dupla antiagregação⁷⁹.

O primeiro *stent* com CPE foi implantado em 2003 e desde 2005 está disponível em diversos países da Europa e Ásia. Diversos trabalhos desde então têm estudado a eficácia e segurança desta nova tecnologia⁸⁰. O primeiro estudo, *Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth (HEALING)*, estabeleceu o perfil de segurança, porém demonstrou que o *stent* não reduziu a reestenose no mesmo patamar que o *stent* farmacológico⁸¹. Na verdade, nenhum trabalho ainda conseguiu demonstrar uma superioridade destes novos *stents* em relação aos atuais *stents* farmacológicos. A explicação encontra-se na complexidade dos marcadores que definem as CPE e a maneira como essas células modulam a reendotelização⁸². Os futuros *stents* com CPE devem considerar os avanços nos marcadores de superfície que caracterizam esse tipo celular, com múltiplos anticorpos no *stent*⁸³.

10 CONCLUSÕES

Não houve associação entre CPE pré ou pós-angioplastia e a ocorrência de reestenose coronariana e de eventos cardiovasculares adversos após intervenção coronariana percutânea em homens submetidos a angioplastia eletiva no INC

O número de CPE circulantes pré-angioplastia coronariana foi maior em pacientes em uso de clopidogrel.

O número de CPE circulantes pós-angioplastia coronariana foi maior em pacientes em uso de beta-bloqueador.

Através da relação CPE pré/pós angioplastia, observou-se que houve redução de CPE pós-angioplastia em pacientes em uso de bloqueadores do receptor de angiotensina. Pacientes com diabetes, idade acima de 60 anos, em uso de clopidogrel ou beta-bloqueador mostraram tendência a redução de CPE pós-angioplastia, e em pacientes com IAM até 90 dias antes do procedimento, a tendência foi de aumento das CPE pós-angioplastia.

REFERÊNCIAS

- 1- World Health Organization. Cardiovascular Diseases. [Internet - acessado em 06/01/16] Available from: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/.
- 2- Center of Disease Control and Prevention: Heart Disease Statistics and Maps . [Internet - acessado em 06/01/16]. Available from: <http://www.cdc.gov/heartdisease/facts.htm>.
- 3- Indicadores e Dados Básicos - Brasil – 2012 [Internet – acessado em 03/02/2016]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/ldb2012/matriz.htm>
- 4- Azambuja MI, Foppa M, Maranhao MF, Achutti AC. Economic burden of severe cardiovascular diseases in Brazil: an estimate based on secondary data. *Arq Bras Cardiol*. 2008;91(3):148–155
- 5- Abrams J, Thadani U. Therapy of stable angina pectoris: the uncomplicated patient. *Circulation* 2005;112:e255
- 6- Iqbal J, Gunn J, Serruys PW. Coronary stents: historical development, current status and future directions. *Br Med Bull* 2013;106:193–211
- 7- Piegas L, Haddad N. Intervenção Coronariana Percutânea no Brasil. Resultados do Sistema Único de Saúde. *Arq Bras Cardiol* 2011;96(4):317-324
- 8- Godoy P, Klein C, Silva N, Oliveira G. Letalidade hospitalar nas angioplastias coronárias no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 1999-2003. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2007;23(4):845-851
- 9- Caramori P, Yamamoto G, Zago A. Reestenose pós-angioplastia. Fisiopatogenia. *Arq Bras Cardiol* 1997;69:141-150
- 10- Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. Part 1. *New Eng J Med* 1976;295:369–377
- 11- Ross R, Glomset J. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts) *New Eng J Med* 1976;295:420–425
- 12- Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis, *Science* 1973;180:1332–1339
- 13- Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–126
- 14- Widlansky M E, Gokce N, Keaney JF, Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(7):1149–1160

- 15- Libby P, Ridker P, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135–1143.
- 16- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115
- 17- Thorgersen AM, Jansson J, Boman K, Nilsson TK, Weinehal L. High Plasminogen Activator Inhibitor and Tissue Plasminogen Activator Levels in Plasma Precede a First Acute Myocardial Infarction in Both Men and Women Evidence for the Fibrinolytic System as an Independent Primary Risk Factor. *Circulation* 1998;98:2241-2247
- 18- Libby P, Tabas I, Fredman G, Fisher EA. Inflammation and its resolution as determinants of acute coronary syndromes. *Circ Res* 2014;114:1867–79
- 19- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964-967
- 20- Grant MB, May WS, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 2002;8:607–612
- 21- Tikhonenko M, Lydic TA, Opreanu M, Li Calzi S, Bozack S, McSorley KM, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids prevent diabetic retinopathy by inhibition of retinal vascular damage and enhanced endothelial progenitor cell reparative function. *PLoS One* 2013;8:e55177.
- 22- Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348:593-600.
- 23- Vasa M, Fichtschere S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ. Res.* 2001;89:e1-e7.
- 24- Werner N, Ksiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl. J Med* 2005; 353(10):999-1007
- 25- Güven H, Shepherd RM, Bach RG, Capoccia BJ, Link DC. The number of endothelial progenitor cell colonies in the blood is increased in patients with angiographically significant coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(8):1579–1587.
- 26- Gruntzig A. Transluminal dilatation of coronary-artery stenosis. *Lancet* 1978;1:263

- 27- Jr. Ribamar, S. Eduardo. Do balão aos *stents* farmacológicos: a história e a evolução da intervenção coronariana percutânea. In: Paola A, Barbosa M, Guimarães J (eds). *Cardiologia: livro-texto da Sociedade Brasileira de Cardiologia*. São Paulo: Manole, 2012. P.
- 28- Kelsey SF, Miller DP, Holubkov R. Results of percutaneous transluminal coronary angioplasty in patients greater than or equal to 65 years of age (from the 1985 to 1986 National Heart, Lung, and Blood Institute's Coronary Angioplasty Registry) *Am J Cardiol*. 1990;66(15):1033–1038
- 29- Kipshidze N, Dangas G, Tsapenko M, Moses J, Leon MB, Kutryk M, et al. Role of the endothelium in modulating neointimal formation: vasculoprotective approaches to attenuate restenosis after percutaneous coronary interventions. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(4):733–739
- 30- Kastrati A, Schömig A, Elezi S, Schuhlen H, Dirschinger J, Hadamitzky M, et al. Predictive factors of reestenosis after coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(6):1428-36
- 31- Schwartz RS, Holmes DR Jr, Topol EJ. The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 1992;20(5):1284–1293.
- 32- Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto I, et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-eluting stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation* 2001;103:192–5
- 33- Park SJ, Kang SJ, Virmani R, Nakano M, Ueda Y. In-stent neoatherosclerosis: a final common pathway of late stent failure. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(23):2051–7.
- 34- Nakano M, Otsuka F, Yahagi K, Sakakura K, Kutys R, Ladich ER, et al. Human autopsy study of drug-eluting stents restenosis: histomorphological predictors and neointimal characteristics. *Eur Heart J*. 2013;34:3304–3313
- 35- Dangas GD, Claessen BE, Caixeta A, Sanidas EA, Mintz GS, Mehran R. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1897–1907.
- 36- Inoue T, Croce K, Morooka T, Sakuma M, Node K, Simon DI. Vascular inflammation and repair: implications for re-endothelialization, restenosis, and stent thrombosis. *JACC Cardiovasc Interv*. 2011;4:1057–1066
- 37- Welt F, Rpgers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1769-1776

- 38- Inoue T, Sata M, Hikichi Y, Sohma R, Fukuda D, Uchida T, et al. Mobilization of CD34-positive bone marrow-derived cells after coronary stent implantation: impact on restenosis. *Circulation* 2007;115:553-561
- 39- Schober A, Hoffmann R, Oprée N, Knarren S, Iofina E, Hutschenreuter G, et al. Peripheral cd34+ cells and the risk of in-stent restenosis in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2005;96:116-122
- 40- George J, Herz I, Goldstein E, Abashidze S, Deutch V, Finkelstein A, et al. Number and adhesive properties of circulating endothelial progenitor cells in patients with in-stent restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(12):e57–60
- 41- Bonello L, Basire A, Sabatier F, Paganelli F, Dignat-George F. Endothelial injury induced by coronary angioplasty triggers mobilization of endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. *J Thromb Haemost.* 2006;4:979–981
- 42- Pelliccia F, Cianfrocca C, Rosano G, Mercuro G, Speciale G, Pasceri V, et al. Role of endothelial progenitor cells in restenosis and progression of coronary atherosclerosis after percutaneous coronary intervention: a prospective study. *JACC Cardiovasc Interv* 2010;3(1):78–86
- 43- Pelliccia F, Pasceri V, Rosano G, Pristipino C, Roncella A, Speciale G, et al. Endothelial progenitor cells predict long-term prognosis in patients with stable angina treated with percutaneous coronary intervention. *Jpn Circ J.* 2013;77(7):1728–1735
- 44- Leor J, Marber M. Endothelial progenitors: a new tower of Babel? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1588-1590
- 45- Friedrich EB, Walenta K, Scharlau J, Nickenig G, Werner N. CD34-/CD133+/VEGFR-2+ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities. *Circ Res* 2006;98:e20–5.
- 46- Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(1 Supl. 1):1-51
- 47- Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry: International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. *J Hematother* 1996;5:213–226.
- 48- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2012;33:2551–67

- 49- Holly T, Abbott B, Al-Mallah M, Calnon DA, Cohen MC, DiFilippo FP, et al. ASNC imaging guidelines for nuclear cardiology procedures - single photon-emission computed tomography. *J Nucl Cardiol.* 2010;17:941–973
- 50- Popma J, Baim D, Resnic F. Intervenções Coronarianas e Valvares Percutâneas. In: Libby P., Bonow R., Mann D., Zipes D., Braunwal E. (eds). *Braunwald: Tratado de Doença Cardiovasculares.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2010; P. 1419 – 1456.
- 51- Gao M, Yao Q, Liu Y, Sun F, Ma Y, Sun G, et al. Association between mobilization of circulating endothelial progenitor cells and time or degree of injury from angioplasty in patients with exertional angina: A prospective study. *Exp Ther Med.* 2015;10(2):809-815
- 52- Fina L, Molgaard HV, Robertson D, Bradley NJ, Monaghan P, Delia D, et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. *Blood* 1990;75:2417–26.
- 53- Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, Atkins K, Warnke R, Holden JT, et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997;90:5013–21
- 54- Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, Leary AG, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1997;90:5002–12.
- 55- Lee LC, Chen CS, Choong PF, Low A, Tan HC, Poh KK. Time-dependent dynamic mobilization of circulating progenitor cells during percutaneous coronary intervention in diabetics. *Int J Cardiol.* 2010;142:199–201
- 56- Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002;106:2781-2786.
- 57- Fadini GP, Albiero M, Vigili de Kreutzenberg S, Boscaro E, Cappellari R, Marescotti M, et al. Diabetes impairs stem cell and proangiogenic cell mobilization in humans. *Diabetes Care.* 2013;36:943–949
- 58- Loomans CJ, de Koning EJ, Staal FJ, Rookmaaker MB, Verseyden C, de Boer HC, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes* 2004;53:195-199
- 59- Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2001;103:2776–9.

- 60- Massa M, Rosti V, Ferrario M, Campanelli R, Ramajoli I, Rosso R, et al. Increased circulating hematopoietic and endothelial progenitor cells in the early phase of acute myocardial infarction. *Blood* 2005;105:199–206
- 61- Regueiro A, Cuadrado-Godia E, Bueno-Betí C, Diaz-Ricart M, Oliveras A, Novella S, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in acute cardiovascular events in the PROCELL study: Time-course after acute myocardial infarction and stroke. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015;80:146-155
- 62-Thomas HE, Avery PJ, Ahmed JM, Edwards R, Purcell I, Zaman AG, et al. Local vessel injury following percutaneous coronary intervention does not promote early mobilization of endothelial progenitor cells in the absence of myocardial necrosis. *Heart.* 2009;95:555-558
- 63- Mills NL, Tura O, Padfield GJ, Millar C, Lang NN, Stirling D, et al. Dissociation of phenotypic and functional endothelial progenitor cells in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Heart* 2009;95:2003– 8
- 64- Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation.*2001;103:2885-2980
- 65- Eisen A, Leshem-Lev D, Yavin H, Orvin K, Mager A, Rechavia E, et al. Effect of high dose statin pretreatment on endothelial progenitor cells after percutaneous coronary intervention (HIPOCRATES Study). *Cardiovasc Drugs Ther.* 2015;29:129-135
- 66- Chen T, Chen J, Xie X. Effects of aspirin on number, activity and inducible nitric oxide synthase of endothelial progenitor cells from peripheral blood. *Acta Pharmacol Sin* 2006;27:430-439
- 67- Bulut D, Becker V, Mügge A. Acetylsalicylate reduces endothelial and platelet-derived microparticles in patients with coronary artery disease. *Can J Physiol Pharmacol.* 2011;89(4):239-44
- 68- Bahlmann F, Groot K, Mueller O, Hertel B, Haller H, Fliser D, et al. Stimulation of endothelial progenitor cells – a new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor antagonists. *Hypertension.* 2005;45:526-529.
- 69- Pelliccia F, Pasceri V, Cianfrocca C, Vitale C, Speciale G, Gaudio C, et al. Angiotensin II receptor antagonism with telmisartan increases number of endothelial progenitor cells in normotensive patients with coronary artery disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Atherosclerosis* 2010;210:510-515
- 70- Muller P, Kazakov A, Jagoda P, Semenov A, Böhm M, Laufs U, et al. ACE inhibition promotes upregulation of endothelial progenitor cells and

neoangiogenesis in cardiac pressure overload. *Cardiovasc Res.* 2009;83(1):106-14

- 71- França C, Pinheiro L, Izar M, Brunialti MK, Salomão R, Bianco HT, et al. Endothelial progenitor cell mobilization and platelet microparticle release are influenced by clopidogrel plasma levels in stable coronary artery disease. *Jpn Circ J* 2012;76:729-736
- 72- Antonio N, Fernandes R, Rodriguez-Losada N, Jiménez-Navarro M, Paiva A, Galván E, et al. Stimulation of endothelial progenitor cells: a new putative effect of several cardiovascular drugs. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010;66:219-230
- 73- Yao E-H, Fukuda N, Matsumoto T, Katakawa M, Yamamoto C, Han Y, et al. Effects of antioxidative beta-blocker celiprolol on endothelial progenitor cells in hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2008;21:1062-1068
- 74- Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002;106:2781-2786
- 75- Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M, Kalka C. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(9):1441–1448
- 76- Thum T, Hoeber S, Froese S, Stichtenoth DO, Galuppo P, Jakob M, et al. Age-dependent impairment of endothelial progenitor cells is corrected by growth-hormone-mediated increase of insulin-like growth-factor-1. *Circ Res* 2007;100:434–43
- 77- Scheubel R, Zorn H, Silber RE, Kuss O, Morawietz H, Holtz J, et al. Age-Dependent Depression in Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:2073-2080
- 78- Haude M, Lee SW, Worthley SG, Silber S, Verheye S, Erbs S, et al. The REMEDIE trial: a randomized comparison of a combination sirolimus-eluting endothelial progenitor cell capture stent with a paclitaxel-eluting stent. *JACC Cardiovasc Interv.* 2013;6:334–43
- 79- Nakazawa G, Granada JF, Alviar CL, Tellez A, Kaluza GL, Guilhemier MY, et al. Anti-CD34 antibodies immobilized on the surface of sirolimus –eluting stents enhance stent endothelialization. *J Am Coll Cardiol. Interv.* 2010;3:68-75
- 80- Sethi R, Lee CH. Endothelial Progenitor Cell Capture Stent: Safety and Effectiveness. *J. Interven. Cardiol.* 2012;25:493-500

- 81- Aoki J, Serruys PW, Van Beusekom H, Ong AT, McFadden EP, Sianos G, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34: the HEALING-FIM (Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth-First in Man) registry. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(10):1574–1579
- 82- Garg S, Duckers HJ, Serruys PW. Endothelial progenitor cell capture stents: will this technology find its niche in contemporary practice? *Eur Heart J*.2010;31(9):1032–1035
- 83- Leopold J. Prohealing Endothelial Progenitor Cell Capture Stents: do the cells captured explain clinical outcomes. *Circ. Cardiovasc. Interv.*2013;6:494-495

APÊNDICES

Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto: Células progenitoras endoteliais: o papel na fisiopatologia da reestenose após intervenção coronariana percutânea

Instituição: Instituto Nacional de Cardiologia (INC)

Investigador Principal: Fernando Santiago Montenegro

INFORMAÇÕES E OBJETIVO DO ESTUDO

Você está sendo selecionado para uma pesquisa porque será submetido a um procedimento de revascularização miocárdica percutânea eletiva, que consiste na desobstrução de artérias coronárias. Tal procedimento foi indicado pelo seu médico para melhorar a chegada do sangue até o coração, sendo esse um tratamento bem conhecido e que oferece melhora em muitos casos.

No entanto, uma parte dos pacientes não melhora com a revascularização percutânea, que por sua vez tem também alguns riscos. Uma das causas da não melhora com este tratamento é a reestenose, que significa uma nova obstrução no local onde foi feito o procedimento. Não se sabe ainda exatamente o que leva alguns pacientes a apresentarem reestenose e outros não.

O objetivo desta pesquisa é verificar se a variação da quantidade de células progenitoras endoteliais pode prever que pacientes têm maior risco de reestenose. As células progenitoras endoteliais são células que circulam no sangue e que têm como uma de suas funções o reparo de danos causados aos vasos sanguíneos.

A comprovação de uma relação entre a variação do número dessas células antes e após a revascularização percutânea pode futuramente ser utilizada para o desenvolvimento de medidas com a finalidade de prevenir a reestenose.

Se você concordar em participar desse estudo, será solicitado a assinatura deste termo de consentimento livre e esclarecido. O seu procedimento de angioplastia não será modificado caso deseje ou não participar desse projeto. A sua participação consiste, além do tratamento proposto a duas coletas de uma pequena amostra de sangue venoso (aproximadamente 5 ml), uma no dia do procedimento e outra na manhã seguinte a este. Esses exames serão usados para quantificar as células progenitoras endoteliais circulantes no sangue.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Após a coleta de sangue inicial você será acompanhado durante 1 ano com consultas regulares no INC em 3 meses, 6 meses, 9 meses e 1 ano. As consultas tem como objetivo acompanhar a sua evolução. Essas consultas não substituem o seu acompanhamento regular com o médico que indicou o procedimento, isto é, você deve continuar indo as consultas regulares de seu médico independente das consultas do projeto. O acompanhamento total será feito por 1 ano porém sua participação pode durar mais se, com base nas informações reunidas durante o estudo, o mesmo precisar ser prolongado. Nesse caso você será informado com antecedência e poderá concordar ou não em continuar o estudo.

SERÁ REALIZADO ALGUM EXAME OU PROCEDIMENTO NO ESTUDO?

O seu procedimento de angioplastia já agendado será realizado independente da sua participação no projeto e o mesmo não irá interferir nele. Será coletado sangue venoso antes e após o procedimento de angioplastia com relação da contagem de células progenitoras endoteliais e leucometria. Durante o acompanhamento nas consultas regulares será feito uma história médica com seus sintomas antigos e atuais, cirurgias e procedimentos já realizados, sintomas atuais e medicações em uso. Você precisará dizer ao seu médico todas as medicações de uso regular (incluindo homeopatia e vitaminas). Você será submetido também a exame físico completo com medidas de pressão sanguínea e batimentos do coração.

Caso durante o acompanhamento volte a desenvolver sintomas relacionados ao coração como dor, cansaço, falta de ar poderá ser submetido a exames para identificar novas obstruções nos vasos do coração entre eles eletrocardiograma, ecocardiograma, ecocardiograma de stress, cintilografia miocárdica, teste ergométrico e cateterismo. Os exames só serão realizados com sua autorização e concordância do seu médico. Caso não queira realizar nenhum novo exame você continuará o acompanhamento normal do estudo até seu término. A não realização dos exames é um direito seu e não implica no seu desligamento do estudo. Todos os exames serão realizados dentro do Instituto de Cardiologia sem nenhum custo para você.

QUAIS OS BENEFÍCIOS POR MINHA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO?

É possível que não haja benefício direto por participar deste estudo. Entretanto, sua participação nos ajudará a entender melhor a patologia de reestenose e sua relação com as células progenitoras endoteliais.

MEUS DADOS PESSOAIS SERÃO MANTIDOS EM SIGILO?

Todas as informações serão mantidas em total sigilo. Estaremos registrando as informações em formulários de coleta de dados que não contêm o seu nome, somente suas iniciais. Somente os investigadores terão acesso a eles.

O QUE ACONTECERÁ SE EU DECIDIR NÃO PARTICIPAR DESTES ESTUDO?

Sua participação neste registro é voluntária. Você pode se recusar a participar ou retirar sua participação a qualquer momento sem que sofra qualquer penalidade ou perda de qualquer benefício.

QUAIS SÃO AS MINHAS RESPONSABILIDADES?

Deverá seguir as informações recebidas, comparecer em todas as visitas agendadas, informar se houver qualquer mudança em sua saúde e quais medicamentos você toma.

QUAIS OS RISCOS DA MINHA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO?

O risco direto consiste na coleta de sangue venoso antes e 24 horas após a angioplastia podendo causar sangramento local ou hematoma. Esse será o único procedimento necessário para o estudo. Ao longo das consultas caso você desenvolva algum sintoma poderá ser indicado a realização de testes para verificar isquêmica (sofrimento do seu coração). Os testes só serão realizados com o seu consentimento e do seu médico. A não realização desses testes não implica no seu desligamento do estudo. Os testes são os listados abaixo com os respectivos riscos:

- Eletrocardiograma – exame que avalia o padrão elétrico do seu coração. O único risco consiste na possível necessidade de raspar o tórax no local onde será colocado o aparelho.
- Ecocardiograma – exame que olha o seu coração em movimento, semelhante ao ultra-som. Seu risco consiste em permanecer deitado para a realização do exame podendo causar algum desconforto.
- Ecocardiograma de stress – igual ao exame anterior porém com utilização de um remédio (dobutamina) que aumenta a frequência cardíaca e a força do coração. Os riscos incluem taquicardia (coração bater rápido), arritmias, possibilidade de causar dor no peito, morte súbita.
- Teste ergométrico – exame na qual você corre na esteira para avaliar como seu coração responde ao esforço. Os riscos incluem cansaço pelo esforço, taquicardia, arritmias, dor no peito, morte súbita.
- Cintilografia com estresse – exame no qual você corre na esteira ou recebe um remédio chamado dipiridamol que simula um esforço físico e depois entra num aparelho que faz imagens do seu coração. Os riscos são os mesmos do teste ergométrico.
- Cateterismo – exame já realizado por você no qual há a injeção de contraste para tirar fotos das artérias do coração. Os riscos incluem reação ao contraste, dor no peito, perfuração de artérias, hematoma, derrame pericárdico, arritmias, necessidade de cirurgia de urgência e morte.

TEREI ALGUMA COMPENSAÇÃO POR PARTICIPAR NO ESTUDO?

Os custos com transporte para as consultas serão arcados pelos pesquisadores para aqueles que não possuem direito ao vale transporte. Também serão arcados os custos com alimentação nos dias da consulta.

CASO TENHA ALGUMA COMPLICAÇÃO DURANTE O ESTUDO?

Qualquer mudança na sua saúde deverá ser comunicado imediatamente aos pesquisadores. Caso seja necessário atendimento de emergência deverá procurar a unidade de pronto atendimento mais próxima e comunicar imediatamente aos pesquisadores. Caso seja necessário internação será providenciado a sua remoção para o Instituto de Cardiologia.

Caso o senhor se sinta lesado por qualquer razão em decorrência da pesquisa poderá solicitar indenização ou compensação através dos meios legais.

COMO POSSO OBTER MAIS INFORMAÇÕES?

Caso eu tenha outras perguntas a fazer ou sofra algum dano decorrente da minha participação na pesquisa, posso contactar os investigadores principais.

Médico responsável: Dr. Fernando Santiago Montenegro.
Endereço: Rua das Laranjeiras, 374 – 5º andar – Laranjeiras – Rio de Janeiro/RJ – CEP: 22240-006
Telefones (21) 30372288 / (21) 999416031 / (21) 997672515

Se você tiver dúvidas sobre os seus direitos como um participante de um estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética responsável pelo estudo nesta instituição.

Nome do CEP: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Nacional de Cardiologia, no endereço Rua da Laranjeiras, 374 – 5º andar – Laranjeiras – Rio de Janeiro/RJ – CEP: 22240-006 ou telefone: (21) 2285-3344 ramal 2310.

Entendo que nosso relacionamento e o meu tratamento não serão afetados como consequência de minha decisão

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG _____ nº _____, CPF nº _____, recebi

e compreendi por completo as informações por escrito, dadas acima, e as explicações que meu médico me deu. Meu médico me explicou, também, que sou livre para escolher em concordar participar ou recusar.

Eu concordo em participar deste estudo sob as condições descritas acima: meu consentimento não libera os organizadores do estudo de suas responsabilidades. Todos os meus direitos garantidos por lei serão preservados.

Caso eu venha a querer, tenho liberdade em retirar minha participação a qualquer momento. Eu estarei informando o médico do estudo.

As informações referentes a mim permanecerão estritamente confidenciais. Tenho consciência de que meu nome não será revelado em nenhum material publicado proveniente do estudo.

Entendo que esse é um documento em duas vias as quais terei que assinar ambas juntamente com o pesquisador e uma das cópias ficará comigo e outra com o pesquisador.

Nome do paciente:

_____ data: ____/____/____.

assinatura

Investigador que conduziu a discussão do consentimento livre e esclarecido:

Eu confirmo que eu expliquei pessoalmente a natureza, objetivo, duração e efeitos previsíveis e riscos eventuais do estudo para o sujeito da pesquisa identificado acima.

Eu, por este meio, atesto que, conforme meu conhecimento, a pessoa que assina este termo de consentimento livre e esclarecido entendeu a natureza, exigências, benefícios e riscos de sua participação e que sua assinatura é válida.

Nome do investigador:

_____ data: ____/____/____

Fernando Santiago Montenegro

Testemunha:

_____ data: ____/____/____

Andrea Rocha de Lorenzo

Apêndice B – Ficha de avaliação dos pacientes

Ficha – Projeto Células Progenitoras Endoteliais

Nome:

Idade: Data de nascimento: __/__/__

Sexo:

Prontuário:

Local de acompanhamento:

Endereço:

Telefone:

Altura:

Peso:

IMC:

Co-morbidades:

HAS		Tabagismo ativo	
DM (NID)		Ex-tabagista	
DM (ID)		Sedentário	
DLP		IRC (creat > 1,5)	
Hist. familiar		IAM prévio	
PTCA previa		CRVM previa	

Medicações de uso regular

IECA		Clopidogrel	
BRA		Aldactone	
B-bloqueador		Diurético	
Estatina		Marevan	
AAS		BLQ de Cálcio	

Outras: _____

Procedimento de Angioplastia

Data: __/__/__

Via: radial () femoral () outra: _____

Indicação: _____

Laudo:

Consulta 03 meses – data: ____/____/____

Sintomático sim () não ()

Avaliação:

Consulta 06 meses – data: ____/____/____

Sintomático sim () não ()

Avaliação:

Consulta 09 meses – data: ____/____/____

Sintomático sim () não ()

Avaliação:

Consulta 12 meses - data: ____/____/____

Sintomático sim () não ()

Avaliação:

Desfecho primário: sim () não ()

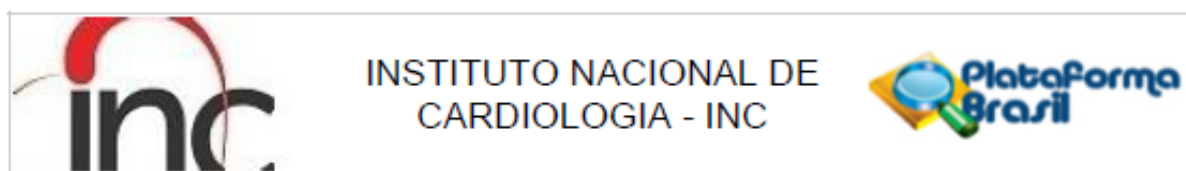
Sind. Coronariana Aguda	
Angina ou equivalente associado a exame de imagem	

Desfecho secundário: sim () não ()

angina típica sem isquemia documentada em testes não invasivos	
reestenose intra-stent visualizada em novo cateterismo cardíaco	
óbito por qualquer causa	
óbito por doença cardiovascular	
necessidade de nova revascularização miocárdica	

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer final do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Pesquisa da relação entre as células progenitoras (células com capacidade de originar outros tecidos) e o surgimento de nova obstrução que ocorre após a colocação de stent nos vasos do coração.

Pesquisador: Fernando Santiago Montenegro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 27615914.9.0000.5272

Instituição Proponente: Instituto Nacional de Cardiologia - INC

Patrocinador Principal: Instituto Nacional de Cardiologia - INC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 662.939

Data da Relatoria: 29/04/2014

Apresentação do Projeto:

Resposta ao parecer consubstanciado do CEP nº 616.561, de 15/04/2014.

Foram adicionados ao protocolo os seguintes documentos:

1. resposta CEP 2(27/04/2014);
2. nova versão das Informações Básicas do Projeto (27/04/2014);
3. nova versão do TCLE (27/04/2014);
4. nova digitalização do formulário de ciência do projeto de pesquisa pelas chefias(15/04/2014).

Objetivo da Pesquisa:

Ver parecer consubstanciado nº 540.241 de 25/02/2014.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

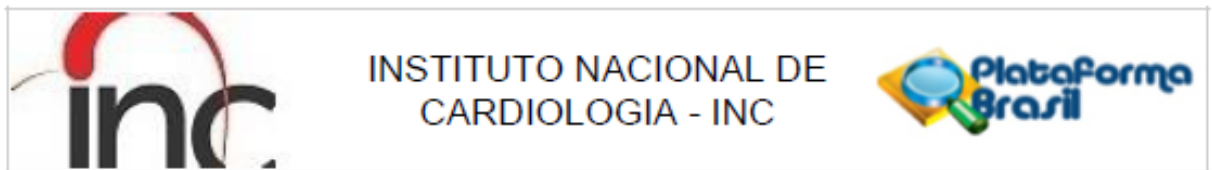
Ver parecer consubstanciado nº 540.241 de 25/02/2014.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Ver parecer consubstanciado nº 540.241 de 25/02/2014.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ver parecer consubstanciado nº 540.241 de 25/02/2014.



Continuação do Parecer: 662.939

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências:

1. Quanto ao projeto:

a. o título público deve ser reescrito em linguagem acessível à população geral, não especialista, que acesse a Plataforma Brasil.

Resposta 1: Em relação ao título público, o mesmo foi reescrito da seguinte maneira: Pesquisa da relação entre células progenitoras endoteliais e reoclusão após angioplastia coronariana percutânea.

Avaliação 1: apesar da modificação, o título público continua redigido em linguagem técnica. Pendência não atendida.

Resposta 2: o título publico foi reescrito: Pesquisa da relação entre as células progenitoras (células com capacidade de originar outros tecidos) e o surgimento de nova obstrução que ocorre após a colocação de stent nos vasos do coração.

Avaliação 2: pendência atendida.

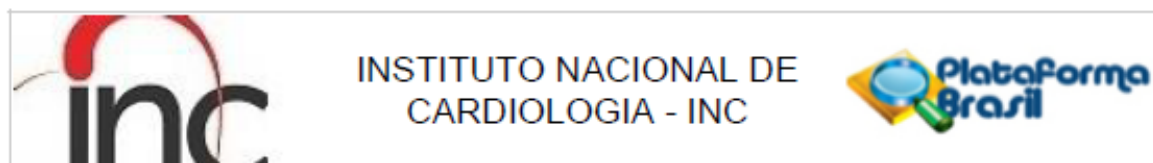
2. O orçamento financeiro deve ser detalhado, com recursos, fontes e destinação, bem como a forma e o valor de eventual remuneração dos pesquisadores (incluindo bolsas). Solicitamos esclarecimento quanto à origem dos recursos (pesquisa ou assistência? Financiados pelo orçamento do instituto ou por agências de fomento?).

Resposta 1: Em relação ao orçamento, não haverá bolsa ou remuneração adicional para os pesquisadores. Os materiais necessários para a pesquisa já se encontram disponíveis no Instituto Nacional de Cardiologia.

Avaliação 1: se os materiais já se encontram disponíveis no INC, é necessário descrever a origem dos recursos para a sua aquisição. Pendência não atendida.

Resposta 2: não haverá bolsa ou remuneração adicional para os pesquisadores. Os materiais necessários para a pesquisa já se encontram disponíveis no Instituto Nacional de Cardiologia e foram adquiridos com verbas da FINEP alocadas em vários projetos do laboratório de Biologia Celular e Molecular do INC, sendo utilizados rotineiramente no laboratório em diversas pesquisas, com sua reposição assegurada através desse financiamento (FINEP).

Avaliação 2: pendência atendida.



Continuação do Parecer: 662.939

3. Deve ser apresentada a declaração de anuência das chefias dos serviços nos quais a pesquisa será desenvolvida.

Resposta 1: Declaração de anuência das chefias: foi assinada e anexada à plataforma Brasil.

Avaliação 1: a imagem excluiu a última assinatura do documento. Solicitamos o envio da digitalização corrigida do formulário. Pendência não atendida.

Resposta 2: a declaração de anuência das chefias ela foi redigitalizada para incluir todas as assinaturas.

Avaliação 2: pendência atendida.

4. O TCLE deve esclarecer que o participante tem o direito a solicitar indenização por meios legais em caso de danos decorrentes da pesquisa.

Avaliação 1: apesar das modificações realizadas, a nova versão do TCLE ainda não menciona a possibilidade de indenização. Pendência não atendida.

Resposta 2: a seguinte frase foi acrescentada no TCLE: "Caso o senhor se sinta lesado por qualquer razão em decorrência da pesquisa poderá solicitar indenização ou compensação através dos meios legais."

Avaliação 2: pendência atendida.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme Resolução 466/12, relatórios semestrais e final deverão ser enviados ao CEP/INC através de notificação na Plataforma Brasil.