



ARTIGO ORIGINAL

## Estratificação prognóstica na hipertensão pulmonar: valor acrescido da abordagem multibiomarcadores



Rui Plácido<sup>a,\*</sup>, Nuno Cortez-Dias<sup>a</sup>, Susana Robalo Martins<sup>a</sup>, Ana Gomes Almeida<sup>a</sup>, Carina Calisto<sup>b</sup>, Susana Gonçalves<sup>a</sup>, Malha Sadoune<sup>c</sup>, António Nunes Diogo<sup>a</sup>, Alexandre Mebazaa<sup>c,d</sup>, Fausto José Pinto<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Cardiology Department, Santa Maria Hospital, Lisbon Academic Medical Centre, CCUL, Lisbon, Portugal

<sup>b</sup> Pathology Department, Santa Maria Hospital, Lisbon, Portugal

<sup>c</sup> UMR-S 942, INSERM, Paris, France

<sup>d</sup> Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Saint Louis Lariboisière University Hospital, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France

Recebido a 30 de maio de 2016; aceite a 1 de agosto de 2016

Disponível na Internet a 21 de janeiro de 2017

### PALAVRAS-CHAVE

Hipertensão pulmonar;  
Biomarcadores;  
Prognóstico;  
Ecocardiografia

### Resumo

**Introdução:** A hipertensão pulmonar (HP) compreende um grupo de doenças progressivas caracterizadas por aumento na resistência vascular pulmonar, conduzindo a falência ventricular direita e morte prematura. A estratificação de risco é fundamental para a avaliação prognóstica e orientação terapêutica, sendo que a acuidade dos parâmetros convencionais é limitada, sobretudo no que respeita aos biomarcadores.

**Objetivos:** Determinar o valor prognóstico de um painel de novos biomarcadores e avaliar o benefício da sua conjugação num *score* multibiomarcador para predição de morbimortalidade na HP.

**Metodologia:** Estudo de coorte prospetivo de doentes com HP submetidos a avaliação clínica, ecocardiográfica e laboratorial, incluindo doseamento da porção N-terminal do péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) e dos seguintes novos biomarcadores: porção médio-regional da pro-adrenomedulina (MR-proADM), copeptina, endotelina-1, porção médio-regional da pró-hormona ANP (MR-proANP) e recetor solúvel da interleucina-33 (sST2). Determinou-se a acuidade dos diferentes parâmetros de avaliação na predição de morte por qualquer causa e de morte ou hospitalização por causa cardíaca. Concebeu-se um *score* multibiomarcador a partir da distribuição por tercís dos níveis séricos de novos biomarcadores e a sua acuidade prognóstica incremental foi avaliada comparativamente aos marcadores convencionais.

\* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: [placidorui@gmail.com](mailto:placidorui@gmail.com) (R. Plácido).

**Resultados:** Incluíram-se 43 doentes com HP (72,1% sexo feminino;  $59 \pm 15$  anos). A maioria dos doentes (65,1%) tinha HP, grupo 1. Durante um seguimento mediano de 34 meses, 26% dos doentes ( $n = 11$ ) faleceram e 35% ( $n = 15$ ) foram hospitalizados por causa cardíaca. Os diferentes parâmetros dimensionais ventriculares e auriculares, bem como a menor fração de área ventricular direita, foram preditores prognósticos relevantes. Relativamente aos biomarcadores, foram preditores independentes de mortalidade o NT-proBNP (log) (hazard ratio [HR]: 31,14; intervalo de confiança a 95% [IC95%]: 3,12-310,7;  $p = 0,003$ ) e a renina (HR: 1,02; IC95%: 1,005-1,038;  $p = 0,009$ ), e do risco de morte ou hospitalização o MR-proANP (HR: 1,008; IC95%: 1,004-1,011;  $p < 0,001$ ) e o sST2 (HR: 1,005; IC95% 1,001-1,009;  $p = 0,04$ ). O score multibiomarcador, concebido a partir da distribuição por tercís dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2, foi superior a qualquer dos parâmetros convencionais na estratificação prognóstica e possibilitou a identificação dos grupos de baixo risco, risco intermédio e risco elevado, cuja mortalidade aos três anos atingiu 77,8%.

**Conclusão:** Uma abordagem multibiomarcadores é útil na estratificação prognóstica de doentes com HP. O score que incorpora o NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2 identifica com precisão os doentes de elevado risco.

© 2016 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos os direitos reservados.

## KEYWORDS

Pulmonary hypertension;  
Biomarkers;  
Prognosis;  
Echocardiography

## Prognostic stratification in pulmonary hypertension: A multi-biomarker approach

### Abstract

**Introduction:** Pulmonary hypertension (PH) covers a group of conditions characterized by an increase in pulmonary vascular resistance leading to right ventricular failure. Risk stratification is crucial for adequate prognostic and therapeutic assessment. However, the accuracy of conventional parameters is limited, especially biomarkers.

**Objectives:** To determine the prognostic value of new biomarkers and their combination in a multi-biomarker approach to predict outcome in patients with PH.

**Methods:** In this prospective cohort study, PH patients underwent clinical, echocardiographic and laboratory assessment, including quantification of serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and of the following new biomarkers: mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM), copeptin, endothelin-1, mid-regional pro-atrial natriuretic peptide (MR-proANP) and soluble ST2 (sST2), the interleukin-33 receptor. The accuracy of the different parameters for predicting all-cause mortality and death or hospitalization of cardiac causes was determined. The prognostic value of a multi-biomarker score based on the tertile distribution of serum NT-proBNP, MR-proANP, renin and sST2 was compared to conventional markers.

**Results:** Forty-three patients (72.1% female, age  $59 \pm 15$  years) were included, most of whom (65.1%) had group 1 PH. During a median follow-up of 34 months, 26% of the patients died and 35% were hospitalized for cardiac causes. Atrial and ventricular dimensions and right ventricular fractional area change were prognostic predictors. Log NT-proBNP (HR: 31.14; 95% CI: 3.12-310.7;  $p=0.003$ ) and renin (HR: 1.02; 95% CI: 1.005-1.038;  $p=0.009$ ) were independent predictors of mortality. MR-proANP (HR: 1.008; 95% CI 1.004-1.011;  $p<0.001$ ) and sST2 (HR: 1.005; 95% CI 1.001-1.009;  $p=0.04$ ) were predictors of death or hospitalization. The prognostic value of the multi-biomarker score was higher than any of the conventional parameters, and enabled identification of risk groups (the high-risk group had three-year mortality of 77.8%).

**Conclusion:** A multi-biomarker approach was superior for risk stratification to any single marker. A score that incorporates NT-proBNP, MR-proANP, renin and sST2 accurately identifies patients at low, intermediate and high risk.

© 2016 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introdução

A hipertensão pulmonar (HP) compreende um grupo de doenças progressivas caracterizadas por aumento da

resistência vascular pulmonar, que conduzem a falência ventricular direita e morte prematura. Diversos processos patológicos estão envolvidos na progressão da insuficiência cardíaca (IC) secundária a HP, com destaque para

a lesão miocárdica, remodelagem vascular e ativação neurohormonal resultantes da sobrecarga de pressão das câmaras cardíacas direitas. Na prática clínica, a estratificação de risco é fundamental para a avaliação prognóstica e orientação terapêutica, nomeadamente para o manejo e titulação das novas terapêuticas vasodilatadoras. Usualmente, é baseada na avaliação da capacidade de exercício, ecocardiografia e avaliação hemodinâmica por cateterismo cardíaco<sup>1</sup>. Contudo, a utilização generalizada de muitos destes parâmetros é limitada, devido ao seu carácter subjetivo, dependência do operador ou natureza invasiva.

Nos últimos anos, tem sido investigado o valor prognóstico de inúmeros biomarcadores na HP<sup>2</sup>, já que os mesmos poderão facultar um método eficiente e não-invasivo de estratificação e monitorização. De acordo com as normas de orientação clínica internacionais, apenas a determinação do péptido natriurético cerebral (ou a sua porção N-terminal [NT-proBNP]) se encontra recomendada para a prática quotidiana<sup>1</sup>. No entanto, são reconhecidas as limitações da sua acuidade para efeitos de estratificação prognóstica, particularmente quando coexista doença cardíaca esquerda ou disfunção renal. Além disso, diversos estudos clínicos têm sugerido que a elevação substancial dos níveis séricos de NT-proBNP ocorre muito tardiamente, numa fase de marcada dilatação ventricular e em que o reajuste terapêutico pode já não ser suficientemente efetivo<sup>3</sup>.

Reflexo da complexidade dos mecanismos subjacentes à HP tem sido investigada a utilidade adicional de uma abordagem multibiomarcadores. A investigação clínica tem sido fundamentalmente centrada na estratificação prognóstica dos doentes com IC esquerda e os biomarcadores considerados mais promissores têm vindo a ser subsequentemente testados em pequenos grupos de doentes com IC direita no contexto de HP, o que tem limitado a validade dos resultados. Vários dos biomarcadores investigados no âmbito da IC esquerda refletem processos biológicos cuja relevância poderá ser ainda maior na progressão da HP, com destaque para os marcadores de remodelagem vascular pulmonar (disfunção endotelial, trombose *in situ* e stresse oxidativo) e de sobrecarga ventricular direita. Por isso, a sua investigação é premente. Entre esses biomarcadores destacam-se o recetor solúvel da interleucina-33 (sST2), a renina plasmática, a adrenomedulina e a endotelina-1 (ET-1).

O sST2 é um biomarcador com efeitos pluripotenciais *in vivo*, cuja expressão é estimulada pela deformação mecânica dos fibroblastos cardíacos e dos cardiomiócitos<sup>4</sup>. Estudos recentes documentaram o aumento da sua concentração sérica no contexto da IC aguda e sugerem correlacionar-se com processos de remodelagem e fibrose no contexto de IC crónica<sup>5</sup>. Contudo, o seu valor prognóstico na IC direita secundária a HP permanece desconhecido.

Vários estudos demonstraram que a hiperativação crónica do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) em doentes com IC esquerda apresenta implicações prognósticas consideráveis. Contudo, a sua relevância permanece incerta na IC direita secundária a HP e o valor preditivo da renina plasmática nunca foi estabelecido neste grupo de doentes.

A adrenomedulina, um péptido vasoativo com propriedades natriuréticas produzido em vários tecidos do organismo,

tem sido consistentemente associada ao prognóstico de doentes com IC esquerda<sup>6</sup>. O seu papel na estratificação prognóstica de doentes com HP permanece por determinar.

A ET1 é um potente vasoconstritor e constitui um alvo terapêutico na hipertensão arterial pulmonar<sup>7</sup>. Os seus valores séricos encontram-se aumentados em vários estados de IC, contudo são necessários estudos de seguimento alargado para avaliar o seu impacto prognóstico.

No presente estudo, pretendemos determinar o valor prognóstico de um painel de novos biomarcadores e avaliar o benefício da sua conjugação num *score* multibiomarcador para predição de morbimortalidade por IC direita secundária a HP.

## Métodos

### Desenho do estudo

Estudo observacional prospetivo de doentes consecutivos admitidos na consulta multidisciplinar de HP com o diagnóstico de HP, confirmado por avaliação hemodinâmica. Os critérios de inclusão na presente análise compreenderam doentes com HP dos grupos I, III, IV e V (classificação de Nice, 2013<sup>8</sup>), clinicamente estáveis nos últimos dois meses e em classe funcional  $\geq$  II da Organização Mundial de Saúde (OMS). Os critérios de exclusão consistiram na presença de HP secundária a doenças do coração esquerdo, HP não desproporcionada no contexto de patologia respiratória crónica, história de cirurgia ou traumatismo nos últimos dois meses, doença neoplásica, cirrose hepática ou enfarte do miocárdio prévio. A diferença temporal entre o diagnóstico da doença ou instituição de terapêutica específica e o momento de referenciação à consulta multidisciplinar de HP, correspondente à inclusão no estudo, não constituiu critério de exclusão. O desenho do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da instituição proponente e todos os participantes forneceram consentimento informado.

Na avaliação basal, os doentes foram submetidos a avaliação clínica, ecocardiográfica e laboratorial, que incluiu o doseamento de um painel de biomarcadores novos e convencionais.

### Ensaio laboratoriais

Foram obtidas amostras de soro e plasma (EDTA) a partir de veia antecubital, após cinco minutos de repouso. Determinaram-se o hemograma completo e concentrações séricas de creatinina (com determinação da taxa de filtração glomerular [TFG] pela equação *Modification of Diet in Renal Disease*<sup>9</sup>), sódio e ureia. As alíquotas de plasma foram armazenadas a -80 °C até à subsequente determinação dos biomarcadores. Os níveis de NT-proBNP foram determinados com fase sólida no ensaio imunométrico *Immulate2000* (Siemens Healthcare Diagnostics, Breda, Holanda), disponível comercialmente e validado na prática clínica. A porção terminal da ET-1<sup>10</sup>, porção médio-regional do péptido natriurético auricular<sup>11</sup> (MR-proANP), porção médio-regional da pro-adrenomedulina<sup>12</sup> (MR-proADM), copeptina<sup>13</sup> e sST<sup>14</sup> foram medidas através de ensaios de

quimioluminescência no sistema *Kryptor*<sup>®</sup> (BRAHMS AG; Henningsdorf, Alemanha).

## Ecocardiografia transtorácica

Efetou-se estudo ecocardiográfico em aparelho *GE Vivid 7 Dimension*<sup>®</sup>, incluindo avaliação convencional bidimensional, modo-M, Doppler e Doppler tecidual pulsado do anel lateral tricúspide. As imagens digitais foram analisadas em pós-processamento utilizando o *software EchoPAC Dimension*<sup>®</sup> (GE Healthcare, Milwaukee, WI, EUA), com ocultação para a identificação dos doentes. A função sistólica do ventrículo direito (VD) foi avaliada pela fração de área do VD, excursão sistólica do plano do anel tricúspide (TAPSE) e velocidade sistólica de pico do anel lateral tricúspide.

## Seguimento clínico

Os doentes foram avaliados presencialmente a cada 2-3 meses, tendo sido registada a evolução sintomática, necessidade de titulação terapêutica e ocorrência de eventos clínicos adversos, incluindo hospitalização por causa cardíaca e óbito.

Definiram-se como *endpoints* de análise: (1) ocorrência de óbito por qualquer causa; e (2) ocorrência de óbito ou internamento hospitalar por agravamento da HP durante o tempo de seguimento.

## Análise estatística

As variáveis categoriais foram descritas pela sua frequência absoluta e relativa e foram comparadas por testes de qui-quadrado e exato de Fisher. As variáveis contínuas com distribuição normal foram caracterizadas com a média e desvio-padrão, e comparadas usando-se teste T de Student e ANOVA. As variáveis contínuas com distribuição não normal foram descritas com a mediana e distribuição interquartil (DIQ), e comparadas com testes não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Atendendo à distribuição não normal exponencial do NT-proBNP, os seus valores foram sujeitos a transformação logarítmica previamente à sua inclusão nas análises de sobrevivência.

Para determinar a associação das diferentes variáveis ao risco de morte e de morte ou hospitalização por causa cardíaca durante o seguimento a longo prazo, utilizaram-se análises de sobrevivência pelo método de Kaplan-Meier e de regressão de Cox uni e multivariadas. As sobrevivências livres de eventos foram comparadas, com determinação do valor de *log rank p*, *hazard ratio* (HR) e respetivos intervalos de confiança a 95% (IC95%). Para evitar sobrevalorização de associações inespecíficas, apenas foram incluídas nas análises multivariadas aquelas variáveis com valor *p* inferior a 0,10 determinado em análise univariada. Além disso, as análises multivariadas foram efetuadas com o método *stepwise forward conditional*, com probabilidade de inclusão de 5% e de remoção de 10%.

A acuidade dos diferentes parâmetros para finalidade de estratificação prognóstica foi avaliada pela área sob a *receiver operator characteristic curve* (AUC), com determinação

dos respetivos intervalos de confiança e valor *p* relativamente à ocorrência de óbito aos três anos, e de óbito ou hospitalização por causa cardíaca aos três anos. Calculou-se um *score* multibiomarcador, determinado em cada doente a partir da distribuição por tercís dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2. A acuidade prognóstica do *score* multibiomarcador foi comparada com aquela referente aos diferentes biomarcadores e parâmetros ecocardiográficos individualmente considerados, e avaliou-se o impacto prognóstico da estratificação com base no *score* multibiomarcador através da distribuição da população por tercís.

## Resultados

### Caracterização da população

Estudaram-se 43 doentes, 72,1% dos quais do sexo feminino (*n*=31) e com idade mediana de 59 anos (DIQ: 43-67 anos). Todos os doentes apresentavam manifestações de IC aquando da avaliação inicial, classificadas em classe OMS II e III em 74,4% (*n*=32) e 25,6% (*n*=11), respetivamente. No que respeita à classificação etiológica, a maioria dos doentes (65,1%; *n*=28) tinha hipertensão arterial pulmonar (HAP) do grupo 1 (Nice, 2013), mais frequentemente em associação a doenças do tecido conjuntivo (*n*=11) ou a cardiopatias congénitas (*n*=9). Além disso, 83,7% dos doentes (*n*=36) encontravam-se já medicados com fármacos vasodilatadores específicos, com destaque para os inibidores da fosfodiesterase (58,1%; *n*=25) e os antagonistas do recetor da ET (55,8%; *n*=24). As características clínicas da população são adicionalmente detalhadas na [Tabela 1](#).

Os doentes foram submetidos a avaliação ecocardiográfica, realizada numa mediana de oito dias (DIQ: 2-91) após a avaliação laboratorial. A caracterização ecocardiográfica é detalhada na [Tabela 2](#). Destaca-se que 51,2% dos doentes (*n*=22) apresentavam dilatação ventricular direita (diâmetro basal > 42 mm) e que 86% dos doentes (*n*=37) exibiam pelo menos um parâmetro de disfunção sistólica ventricular direita, incluindo diminuição da fração de área (< 35%) em 41,9% (*n*=18), redução da TAPSE (< 16 mm) em 34,9% (*n*=15) e diminuição da velocidade sistólica do anel tricúspide lateral ( $\leq 10$  cm/s) em 39,5% (*n*=17). Além disso, observou-se dilatação auricular direita traduzida por diâmetro máximo superior a 53 mm em 51,2% (*n*=22).

Os parâmetros referentes à avaliação laboratorial são detalhados na [Tabela 3](#). Apesar de a disfunção renal ter sido muito prevalente, o compromisso identificado foi de gravidade apenas ligeira (TFG: 60-89 mL/min; 24%; *n*=24) ou moderada (TFG: 30-59 mL/min; 25,6%; *n*=11). Destaca-se que os doentes com dilatação ventricular direita exibiram níveis séricos mais elevados de NT-proBNP (1338 pg/mL [354-2275] *versus* [236 111-1005]; *p*=0,021) e MR-proANP (159,7 pg/mL [132,6-287,9] *versus* 111,1 [66,1-161,9]; *p*=0,032); aqueles com diminuição da fração de área do VD apresentaram NT-proBNP mais elevado (1338 pg/mL [822,0-2393,5] *versus* 236 [186-1258]; *p*=0,019); e aqueles com dilatação da aurícula direita (AD) tinham concentrações séricas aumentadas de NT-proBNP (1522 [825-2462] *versus* 215 [91-719]; *p*<0,001), MR-proANP (163,5 [152,6-287,9] *versus* 94,9 [50,8-127,4]; *p*<0,001) e sST2 (62,2 [38,3-77,0] *versus* 30,1 [24,2-47,9]; *p*=0,015).

**Tabela 1** Caracterização da população

	n	Proporção (%)
Classificação etiológica (Nice, 2013)		
<i>Grupo 1</i>	28	65,1
Idiopática	7	16,3
Associada a doença do tecido conjuntivo	11	25,6
Associada a infecção HIV	1	2,3
Associada a cardiopatia congénita	9	20,9
<i>Grupo 3</i>	6	14,0
Secundária a doença intersticial pulmonar	4	9,3
Secundária a doença pulmonar com padrão obstrutivo- restritivo	2	4,7
<i>Grupo 4 - hipertensão pulmonar crónica tromboembólica</i>	7	16,3
<i>Grupo 5 - associada a outra condição</i>	2	4,7
<i>Terapêutica vasodilatadora específica, aquando da avaliação inicial</i>		
Inibidor da fosfodiesterase	25	58,1
Antagonista do recetor da endotelina	24	55,8
Antagonistas dos canais de cálcio	5	11,6

HIV: human immunodeficiency virus.

### Estratificação prognóstica

Durante um seguimento mediano de 34 meses (30-38), 26% (n = 11) dos doentes faleceram e 35% (n = 15) foram hospitalizados por causa cardíaca. A terapêutica farmacológica foi reajustada com instituição de inibidor da fosfodiesterase em nove doentes (20,9%), de antagonista do recetor da ET em 14 doentes (32,6%) e de prostanóides parentéricos em cinco doentes (11,6%), de tal forma que todos os doentes passaram a estar medicados com pelo menos um fármaco vasodilatador específico.

Os doentes que faleceram durante o seguimento (n = 11) haviam apresentado, aquando da avaliação ecocardiográfica inicial, maior dilatação do ventrículo e aurícula direitos e menor fração de área ventricular direita – [Tabela 4](#). Os diferentes parâmetros dimensionais ventriculares e auriculares, bem como a menor fração de área ventricular direita foram preditores relevantes do risco de mortalidade. Entre

os parâmetros ecocardiográficos, os preditores independentes do risco de morte identificados por análise multivariada de regressão logística foram o diâmetro basal do VD (HR: 1,17; IC95% 1,07-1,27; p < 0,001) e a fração de área da AD (HR: 0,87; IC95% 0,79-0,97; p = 0,008).

Relativamente aos parâmetros laboratoriais, detetaram-se níveis mais elevados de NT-proBNP, MR-proANP, renina, coceptina, ET1, MR-proADM e sST2 entre os doentes que faleceram durante o seguimento – [Tabela 4](#). Além disso, o risco de morte agravou-se com o declínio da função renal. Entre os diferentes biomarcadores estudados, apenas o NT-proBNP (log) e a renina constituíram preditores independentes de mortalidade, com HR respetivamente de 31,14 (3,12-310,7; p = 0,003) e 1,02 (1,005-1,038; p = 0,009). O risco de morte durante o seguimento foi comparado em função da distribuição por tercís dos níveis séricos dos biomarcadores – [Figura 1](#). Comparativamente aos doentes incluídos no 1.º e 2.º tercís, aqueles com níveis mais

**Tabela 2** Parâmetros ecocardiográficos aquando da avaliação inicial

<i>Aurícula direita</i>		
Dimensão (quatro câmaras), mm	56 ± 14	
Área diastólica, cm <sup>2</sup>	22,5 (14,1-33,8)	
Área sistólica, cm <sup>2</sup>	16,5 (9,3-25,8)	
Fração de área, %	21,4 (11,1-35,8)	
<i>Ventrículo direito</i>		
Diâmetro basal, mm	42,9 (37,7-54,0)	
Área diastólica, cm <sup>2</sup>	22,5 (18,8-35,0)	
Área sistólica, cm <sup>2</sup>	15,5 (10,0-20,1)	
Fração de área, %	37,4 ± 12,1	
Excursão sistólica do plano do anel tricúspide, mm	18,7 (15,8-23,0)	
Velocidade sistólica do anel tricúspide lateral, cm/s	11,0 (9,0-12,5)	
<i>Estimativa da pressão sistólica arterial pulmonar, mmHg</i>	64,6 (46,0-84,7)	

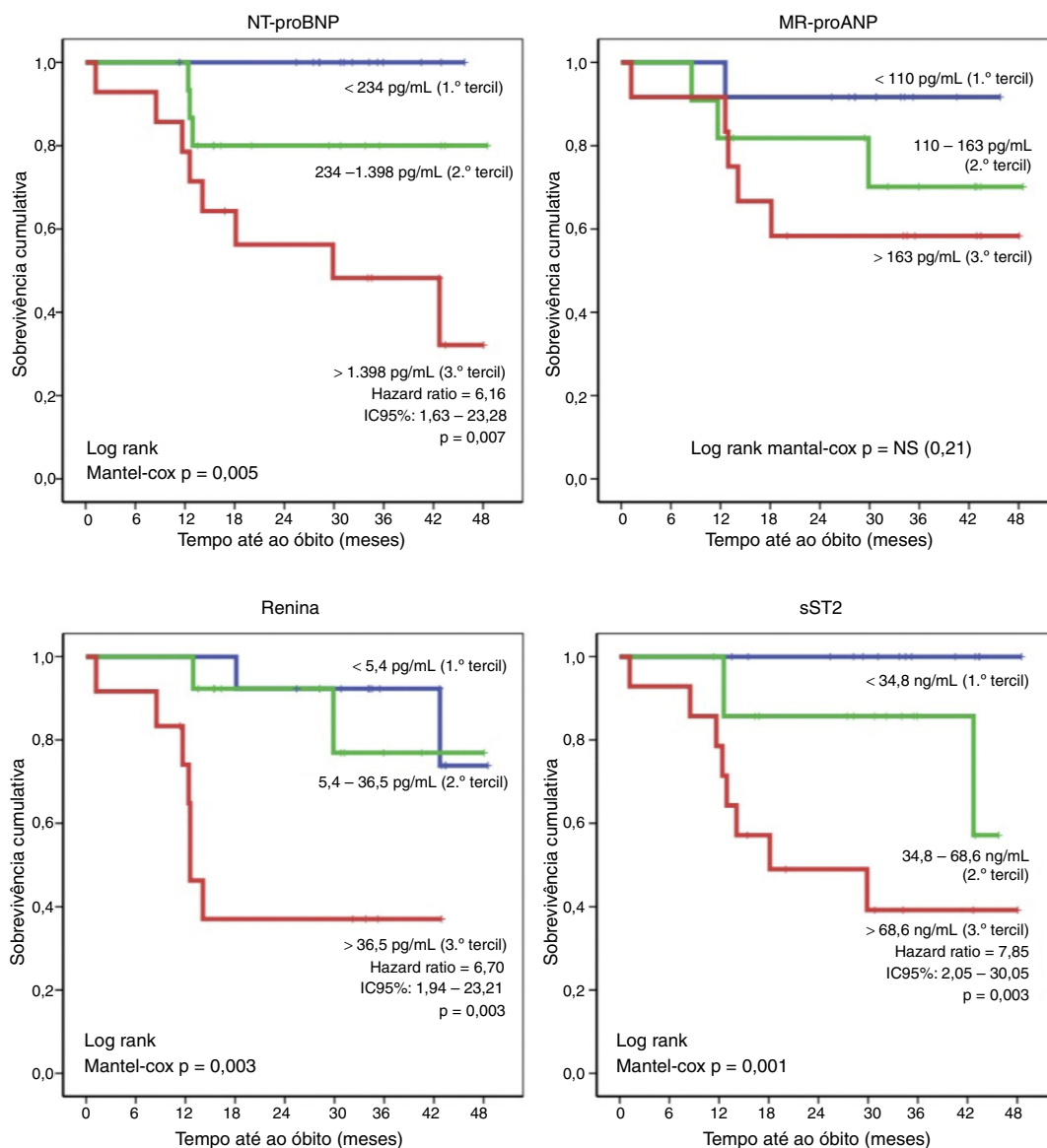
**Tabela 3** Parâmetros laboratoriais aquando da avaliação inicial

Ureia (mg/dL)	45 ± 16
Creatinina (mg/dL)	0,87 (0,75-1,07)
Taxa de filtração glomerular (MDRD) (mL/min)	72 (59-82)
Cistatina C (mg/L)	0,82 (0,76-1,09)
Sódio (mmol/L)	140 ± 3
Enzima conversora da angiotensina (ug/mL)	719 (190-1695)
Renina (mIU/L)	15,5 (4,5-50,8)
Aldosterona (pg/mL)	91,7 (47,4-181,6)
NT-proBNP (pg/mL)	719 (190-1695)
MR-proANP (pmol/L)	151,9 (93,5-183,9)
Copeptina (ng/mL)	9,1 (5,0-15,0)
Endotelina-1 (pg/mL)	82,7 (62,9-122,1)
MR-proADM (pg/mL)	0,86 ± 0,5
sST2 (pg/mL)	47,7 (27,1-75,5)

**Tabela 4** Associação das variáveis clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas à ocorrência de óbito durante o seguimento clínico

	Comparação em função da evolução clínica			Análise univariada de regressão de Cox		
	Óbito (n = 11)	Evolução favorável (n = 32)	Valor p	Hazard ratio	IC95%	Valor p
<i>Características demográficas</i>						
Idade, anos	63 (43-72)	56 (40-66)	NS (0,42)	1,01	0,98-1,05	NS (0,74)
Sexo feminino, n (%)	7 (63,6)	24 (75,0)	NS (0,47)	0,57	0,17-1,97	NS (0,57)
<i>Características clínicas</i>						
HP grupo 1	9 (81,8)	19 (59,4)	NS (0,071)	0,23	0,03-1,98	NS (0,18)
HP grupos 3 a 5	2 (18,2)	13 (40,6)	NS (0,071)	4,36	0,51-37,72	NS (0,18)
<i>Características ecocardiográficas</i>						
AD: dimensão (quatro câmaras), mm	71 ± 11	51 ± 11	< 0,001	1,08	1,03-1,13	0,001
AD: área diastólica, cm <sup>2</sup>	38,8 (28,7-50,2)	19,0 (13,0-24,3)	< 0,001	1,04	1,01-1,06	0,007
AD: área sistólica, cm <sup>2</sup>	31,0 (25,7-48,0)	13,2 (8,1 - 20,1)	< 0,001	1,09	1,04-1,14	< 0,001
AD: fração de área, %	10,5 (6,9-10,9)	25,0 (14,0-39,8)	0,001	0,88	0,80-0,97	0,013
VD: diâmetro basal, mm	57,8 (54,1-64,9)	39,3 (36,0-45,1)	< 0,001	1,12	1,06-1,20	< 0,001
VD: área diastólica, cm <sup>2</sup>	40,0 (25,1-49,0)	21,2 (16,8-28,7)	0,004	1,06	1,01-1,11	0,012
VD: área sistólica, cm <sup>2</sup>	26,7 (16,8-33,4)	12,2 (9,6-18,3)	0,003	1,08	1,02-1,13	0,005
VD: fração de área, %	30 ± 11	40 ± 12	0,033	0,94	0,88-0,99	0,033
VD: excursão sistólica do plano do anel tricúspide, mm	16 (13-23)	20 (16-23)	NS (0,19)	0,92	0,82-1,05	NS (0,22)
VD: velocidade sistólica do anel tricúspide lateral, cm/s	10 (6-11)	12 (9-13)	0,026	0,80	0,61-1,06	NS (0,12)
Estimativa da pressão sistólica arterial pulmonar, mmHg	88 (67-96)	61 (46-76)	0,013	1,02	0,99-1,04	NS (0,07)
<i>Características laboratoriais</i>						
Taxa de filtração glomerular (MDRD)(mL/min)	58 (44-72)	76 (66-84)	0,002	0,94	0,90-0,99	0,01
Cistatina C (mg/L)	1,01 (0,77-1,30)	0,80 (0,75-1,08)	NS (0,13)	6,84	0,63-73,95	NS (0,11)
Sódio (mmol/L)	139 ± 4	140 ± 3	NS (0,25)	0,86	0,71-1,05	NS (0,15)
Enzima conversora da angiotensina (ug/mL)	30 (24-51)	31 (21-42)	NS (0,59)	1,01	0,99-1,04	NS (0,39)
Renina (mIU/L)	55,2 (16,2-142,5)	10,8 (3,0-23,1)	0,004	1,01	1,004-1,02	0,001
Aldosterona (pg/mL)	138,0 (31,2-391,0)	87,7 (48,1-143,8)	NS (0,29)	1,00	0,999-1,001	NS (0,49)
NT-proBNP (log)* (pg/mL)	2854 (1326-5632)	316 (174-1163)	< 0,001	9,44	2,40-37,13	0,001
MR-proANP (pmol/L)	1,24 ± 0,45	0,73 ± 0,45	0,006	1,004	1,002-1,007	0,001
Copeptina (ng/mL)	18,84 (13,09-25,16)	6,14 (5,00-10,29)	< 0,001	1,1	1,04-1,16	0,001
Endotelina-1 (pg/mL)	142,8 ± 62,9	76,5 ± 38,2	0,014	1,01	1,005-1,02	0,004
MR-proADM (pg/mL)	1,19 (0,93-1,40)	0,62 (0,47-0,85)	0,001	3,06	1,19-7,87	0,021
sST2 (pg/mL)	75,5 (56,7-103,5)	40,1 (25,4-59,1)	0,002	1,002	0,997-1,007	NS (0,48)

\* Para a análise de regressão logística foi utilizada a transformação logarítmica do doseamento sérico.



**Figura 1** Distribuição por tercís dos níveis séricos dos biomarcadores relativamente ao *endpoint* mortalidade.

elevados de NT-proBNP (3.º tercil: > 1398 pg/mL) apresentaram maior risco de morte (HR = 6,16; IC95%: 1,63-23,28; p = 0,007), tendo-se verificado o mesmo naqueles com níveis aumentados de renina (3.º tercil: > 36,5 pg/mL; HR: 6,70; IC95%: 1,94-23,21; p = 0,003) e de sST2 (3.º tercil: > 68,6 ng/mL; HR: 7,85; IC95%: 2,05-30,05; p = 0,003).

Os doentes que evoluíram desfavoravelmente, com óbito ou hospitalização por causa cardíaca (n = 18), apresentaram igualmente parâmetros ecocardiográficos iniciais mais alterados no que respeita às dimensões e função das câmaras direitas – **Tabela 5**. Entre os parâmetros ecocardiográficos, o único preditor independentes do risco de morte ou hospitalização por causa cardíaca foi o diâmetro basal do VD (HR: 1,08; IC95% 1,04-1,12; p < 0,001). Além disso, os doentes que evoluíram desfavoravelmente exibiam também aumento dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina, copeptina, ET1, MR-proADM e sST2, os quais foram identificados como preditores prognósticos significativos. O risco de morte ou hospitalização não diferiu significativamente em função da TFG inicial. Entre os biomarcadores

avaliados, constituíram preditores independentes do risco de morte ou hospitalização o MR-proANP (HR: 1,008; IC95% 1,004-1,011; p < 0,001) e o sST2 (HR: 1,005; IC95% 1,001-1,009; p = 0,04). A sobrevivência livre de eventos foi comparada em função da distribuição por tercís dos níveis séricos de biomarcadores – **Figura 2**. Comparativamente aos doentes incluídos no 1.º e 2.º tercís, o risco de eventos adversos foi três vezes maior naqueles com níveis mais elevados de NT-proBNP (3.º tercil: > 1398 pg/mL; HR = 3,72; IC95%: 1,43-9,70; p = 0,007) e cerca de seis vezes maior naqueles com sST2 aumentado (3.º tercil: > 68,6 ng/mL; HR: 5,77; IC95%: 2,16-15,39; p < 0,001).

### Abordagem multibiomarcador na estratificação prognóstica

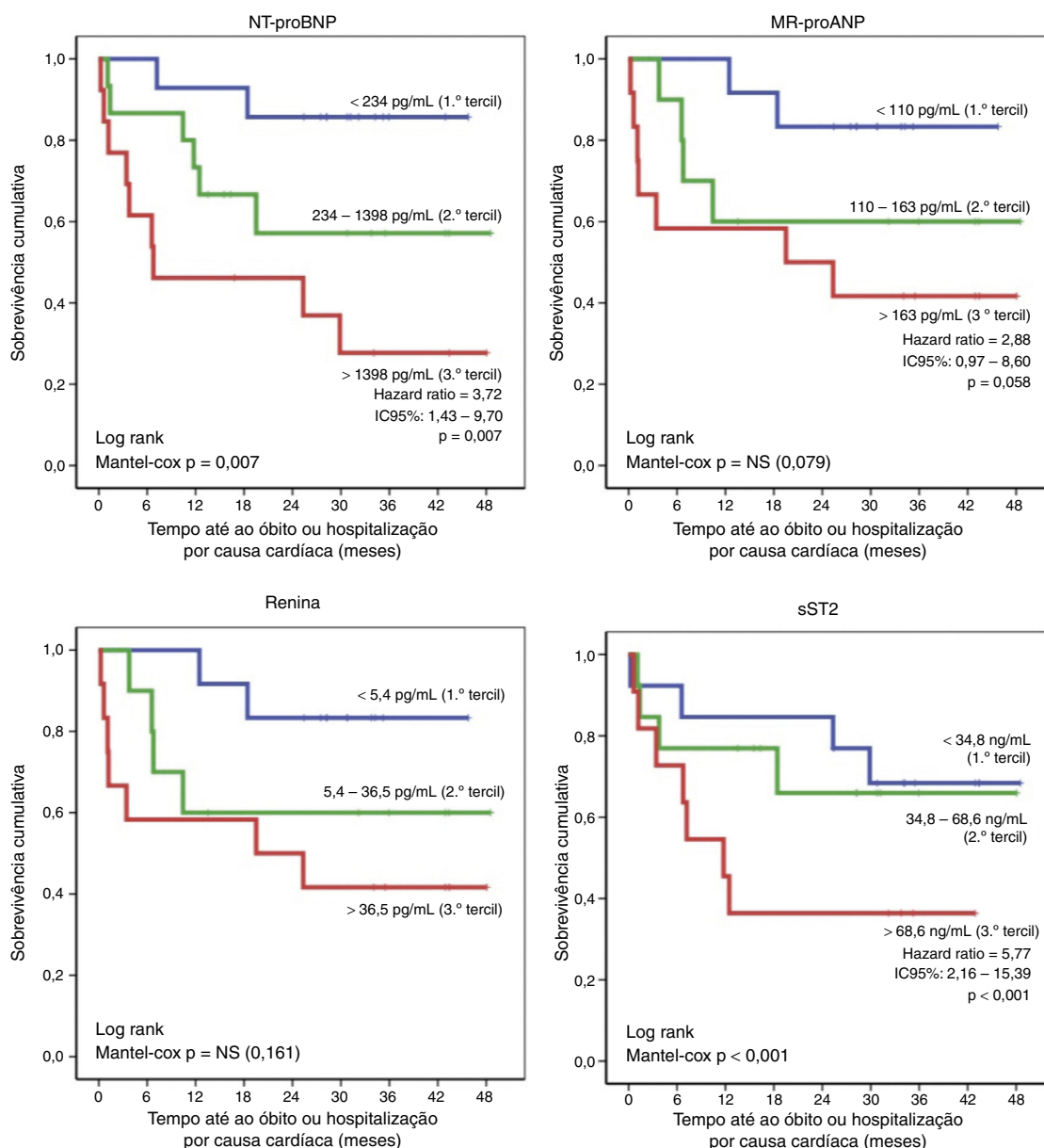
As análises de estratificação sugeriram que o impacto prognóstico dos diferentes biomarcadores não só é distinto, como o perfil temporal dos eventos que prenunciam e o tipo de

**Tabela 5** Associação das variáveis clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas à ocorrência de óbito ou hospitalização por causa cardíaca durante o seguimento clínico

	Comparação em função da evolução clínica			Análise univariada de regressão de Cox		
	Óbito ou hospitalização (n = 18)	Evolução favorável (n = 25)	Valor p	Hazard ratio	IC95%	Valor p
<i>Características demográficas</i>						
Idade, anos	59 (43-66)	62 (42-67)	NS (0,95)	1,003	0,97-1,03	NS (0,87)
Sexo feminino, n (%)	11 (61,1)	20 (80,0)	NS (0,17)	0,49	0,18-1,28	NS (0,14)
<i>Características clínicas</i>						
HP grupo 1	16 (88,9)	12 (48,0)	NS (0,26)	0,16	0,02-1,44	NS (0,11)
HP grupos 3 a 5	2 (11,1)	13 (52,0)	NS (0,26)	6,23	0,70-55,81	NS (0,11)
<i>Características ecocardiográficas</i>						
AD: dimensão (quatro câmaras), mm	65 ± 14	50 ± 11	< 0,001	1,07	1,03-1,11	< 0,001
AD: área diastólica, cm <sup>2</sup>	29,8 (23,7-44,9)	17,5 (12,5-22,9)	0,001	1,02	1,003-1,04	0,026
AD: área sistólica, cm <sup>2</sup>	25,0 (19,1-37,2)	12,3 (8,1-18,7)	0,001	1,06	1,02-1,09	0,001
AD: fração de área, %	13,7 (9,9-25,5)	25,5 (13,5-40,6)	0,018	0,95	0,90-0,99	0,032
VD: diâmetro basal, mm	54 (48-63)	38 (32-43)	< 0,001	1,08	1,04-1,12	< 0,001
VD: área diastólica, cm <sup>2</sup>	29,4 (23,4 - 47,5)	20,0 (16,2 - 22,5)	< 0,001	1,06	1,02-1,09	0,002
VD: área sistólica, cm <sup>2</sup>	19,2 (16,0 - 31,7)	11,0 (8,9 - 17,2)	< 0,001	1,08	1,03-1,12	0,001
VD: fração de área, %	32 ± 9	42 ± 13	0,01	0,94	0,90-0,99	0,012
VD: excursão sistólica do plano do anel tricúspide, mm	18 (14-23)	20 (16-23)	NS (0,53)	0,96	0,88-1,06	NS (0,45)
VD: velocidade sistólica do anel tricúspide lateral, cm/s	10 (7-12)	12 (9-13)	NS (0,17)	0,92	0,76-1,11	NS (0,36)
Estimativa da pressão sistólica arterial pulmonar, mmHg	85 (67-97)	56 (42-72)	< 0,001	1,02	1,01-1,04	0,004
<i>Características laboratoriais</i>						
Taxa de filtração glomerular (MDRD) (mL/min)	66 (52-80)	75 (65-82)	NS (0,11)	0,98	0,95-1,01	NS (0,23)
Cistatina C (mg/L)	0,79 (0,74-1,08)	0,90 (0,76-1,09)	NS (0,68)	1,72	0,17-17,65	NS (0,65)
Sódio (mmol/L)	140 ± 3	140 ± 3	NS (0,53)	0,97	0,82-1,15	NS (0,71)
Enzima conversora da angiotensina (ug/mL)	29,5 (20,0-49,5)	32,0 (24,0-42,0)	NS (0,83)	1,02	0,99-1,04	NS (0,19)
Renina (mIU/L)	38,7 (8,8-84,6)	9,4 (4,2-23,1)	NS (0,07)	1,004	1,001-1,007	0,014
Aldosterona (pg/mL)	89,8 (39,3-208,7)	99,5 (48,7-177,8)	NS (0,99)	1,00	0,999-1,001	NS (0,99)
NT-proBNP (log)* (pg/mL)	1527 (1054-3529)	236 (161-825)	0,001	5,3	1,95-14,39	0,001
MR-proANP (pmol/L)	163,2 (153,3-467,4)	112,2 (74,3-160,3)	NS (0,056)	1,01	1,004-1,01	< 0,001
Copeptina (ng/mL)	11,8 (5,0-19,0)	6,3 (5,0-10,4)	0,07	1,05	1,01-1,10	0,013
Endotelina-1 (pg/mL)	118,0 ± 62,3	77,2 ± 40,6	0,025	1,02	1,01-1,03	0,001
MR-proADM (pg/mL)	1,02 ± 0,48	0,75 ± 0,49	NS (0,13)	2,53	1,07-5,95	0,034
sST2 (pg/mL)	74,7 (48,2-100,5)	40,0 (26,6-47,9)	0,003	1,01	1,001-1,008	0,011

\* Para a análise de regressão logística foi utilizada a transformação logarítmica do doseamento sérico.





**Figura 2** Distribuição por tercís dos níveis séricos dos biomarcadores relativamente ao *endpoint* composto morte ou internamento por causa cardíaca.

eventos a que se associam (mortalidade *versus* morbimortalidade) os distinguem. Assim, enquanto o NT-proBNP e a renina exibiram associação predominante à mortalidade, o MR-proANP e a sST2 mais fortemente se correlacionaram com a morbimortalidade. Por isso, considerámos a possibilidade de a conjugação destes biomarcadores proporcionar valor incremental na acuidade da estratificação prognóstica.

Para testar esta hipótese, desenvolvemos um *score* de estratificação tendo por base a distribuição por tercís dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2, cujas pontuações foram ajustadas de acordo com os HR na predição quer de mortalidade, quer de morte – *Tabela 6*. A pontuação total corresponde ao somatório das pontuações referentes aos níveis séricos de cada um dos biomarcadores e varia entre 0-10.

A acuidade do *score* multibiomarcador para predição de eventos dentro de três anos foi muito elevada, seja no que

respeita à mortalidade (AUC:  $0,94 \pm 0,04$ ; IC95%  $0,85-1,00$ ;  $p < 0,001$ ), seja no que concerne à ocorrência de morte ou hospitalização por causa cardíaca (AUC:  $0,86 \pm 0,08$ ; IC95%  $0,70-1,00$ ;  $p = 0,001$ ). Além disso, a sua acuidade de estratificação prognóstica foi superior à dos biomarcadores que o integram individualmente (*Figura 3*) e também superior à dos vários parâmetros ecocardiográficos (*Figura 4*).

Tendo por base a distribuição por tercís do *score* multibiomarcador distinguiram-se três grupos de doentes com prognóstico aos três anos claramente distinto (*log rank* Mantel-Cox  $p < 0,001$ ): os doentes com *score* inferior a 3, de baixo risco, sem eventos fatais aos três anos e com taxa cumulativa de morte ou internamento de 11,1%; os doentes com *score* compreendido entre 3-7, de risco intermédio, com taxa de mortalidade aos três anos de 16,7% e taxa de cumulativa de morte ou internamento de 25%; e os doentes com *score* superior a 7, de alto risco, cuja

**Tabela 6** Score multimarcador de estratificação prognóstica

Variável	Pontuação
<i>NTproBNP</i>	
< 234 pg/mL	0
234-1398 pg/mL	2
> 1398 pg/mL	4
<i>MR-proANP</i>	
≤ 163 pg/mL	0
> 163 pg/mL	1
<i>Renina</i>	
≤ 36,5 pg/mL	0
> 36,5 pg/mL	1
<i>sST2</i>	
< 34,8 ng/mL	0
34,8-68,6 ng/mL	2
> 68,6 ng/mL	4
<b>Total</b>	<b>0-10</b>

mortalidade aos três anos atingiu 77,8% e cuja taxa de morte ou hospitalização por causa cardíaca foi de 87,5% – **Figura 5**.

## Discussão

Neste estudo prospetivo, avaliámos a acuidade prognóstica de novos biomarcadores (MR-proANP, renina, copeptina, ET1, MR-proADM e sST2) numa população de doentes com IC direita secundária a HP e comparámo-la com parâmetros ecocardiográficos bem estabelecidos. Confirmámos o valor prognóstico do NT-proBNP e demonstrámos, pela primeira vez, que a avaliação conjugada dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2 sintetizada num score multibiomarcador, apresenta utilidade adicional. Este score multibiomarcador apresentou elevada acuidade para estratificação prognóstica e possibilitou a identificação dos doentes de alto risco, os quais poderão eventualmente beneficiar de intervenções terapêuticas multidisciplinares intensivas precoces.

Os resultados deste estudo indicam que os novos biomarcadores são relevantes marcadores prognósticos e sugerem o benefício da sua aplicação clínica. Destaca-se ainda que estes resultados foram obtidos numa população de doentes com IC direita secundária a HP (confirmada por cateterismo direito), mas relativamente heterogénea nas suas etiologias. De forma relevante, a acuidade prognóstica dos marcadores avaliados não diferiu em função da etiologia (classificação de Nice) da HP. Tal é de grande relevância para a prática clínica quotidiana, alargando o espectro da aplicabilidade da estratificação prognóstica com biomarcadores às múltiplas formas clínicas de HP.

Neste estudo confirmámos ainda existir relação entre vários parâmetros anatómicos e funcionais da AD e VD e o prognóstico. Em particular, a dimensão basal do VD e a fração de área da AD constituíram fortes preditores independentes do prognóstico. Destaca-se que os parâmetros funcionais do VD, apesar de correlacionados com o prognóstico, tiveram menor impacto e não foram preditores independentes. Tal enfatiza a dificuldade na avaliação

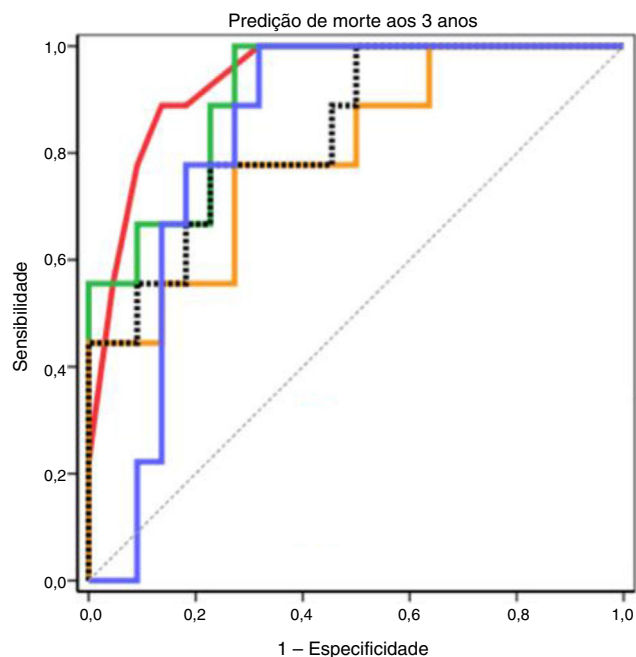
ecocardiográfica da função global ventricular direita, muito afetada pelo acoplamento ventrículo-arterial inerente ao contexto de HP e, possivelmente, dependente de parâmetros de remodelagem como a hipertrofia parietal.

Os péptidos natriuréticos, atualmente considerados os biomarcadores *gold standard* na IC, desempenham um papel importante na homeostasia cardiovascular, incluindo na regulação do tónus vascular, volémia, permeabilidade endotelial e hipertrofia cardíaca. Entre os péptidos natriuréticos, destacam-se o ANP e o BNP, produzidos primariamente nos miócitos das aurículas e ventrículos<sup>15</sup>, respetivamente. Ambos são produzidos em resposta à distensão miocárdica secundária à sobrecarga de pressão ou volume. As funções biológicas do ANP e BNP incluem vários mecanismos compensatórios, como a natriurese, diurese e vasodilatação<sup>16</sup>.

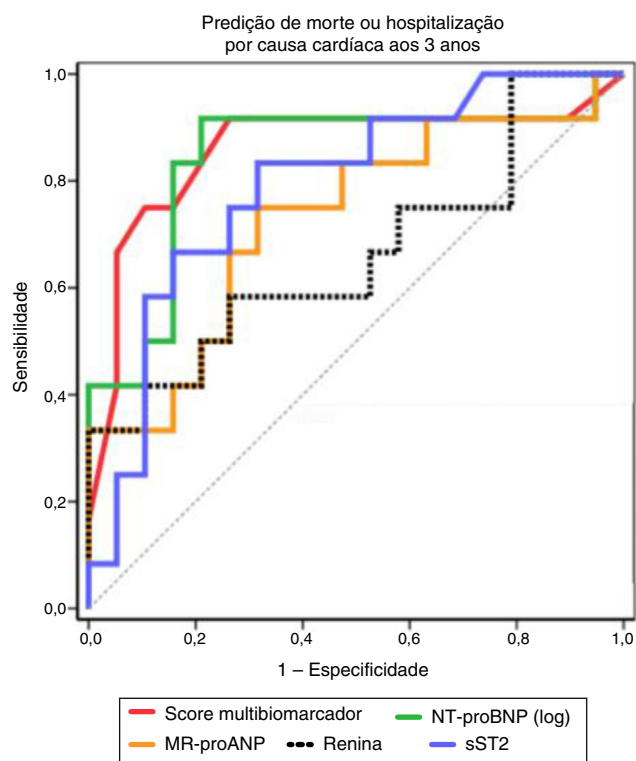
A maioria dos estudos relativos ao uso da classe de péptidos de tipo-B centraram-se no BNP ou no NT-proBNP. O valor prognóstico destes péptidos encontra-se bem demonstrado em todos os estadios da IC esquerda, sendo incremental relativamente a outros marcadores clínicos. Por exemplo, no registo ADHERE<sup>17</sup> verificou-se uma relação linear entre os níveis de BNP e a mortalidade dos doentes hospitalizados por IC descompensada, mesmo após ajustamento para outros marcadores de risco clínicos e laboratoriais.

O ANP, além da ação natriurética, apresenta potentes propriedades vasodilatadoras pulmonares<sup>18</sup>. A sua semivida plasmática é muito reduzida (2-5 minutos)<sup>19</sup>, o que dificulta o seu doseamento. Por isso, a investigação tem-se centrado na avaliação do MR-proANP, um péptido mais estável do ponto de vista biológico. O valor prognóstico do MR-proANP foi já avaliado em doentes com IC esquerda. No estudo PRIDE<sup>20</sup>, o MR-proANP foi identificado como preditor independente de mortalidade em doentes com IC descompensada. No estudo BAC<sup>21</sup> demonstrou-se a não inferioridade do MR-proANP relativamente ao BNP no diagnóstico de IC aguda em doentes com dispneia aguda. Além disso, os dados do estudo sugeriram maior acuidade do MR-proANP na zona cinzenta do BNP e em doentes obesos.

O valor prognóstico dos péptidos natriuréticos tem sido pesquisado em cenários de HP e falência ventricular direita. Contudo, neste campo os resultados são mais limitados. Alguns trabalhos demonstraram que os níveis plasmáticos de BNP e NT-proBNP aumentam em proporção ao grau de disfunção ventricular direita<sup>22</sup> e capacidade funcional<sup>23</sup>, mas o valor prognóstico do MR-proANP nunca foi avaliado. Os resultados do nosso estudo assumem por isso especial relevância, sugerindo benefício e complementaridade destes péptidos para finalidade de estratificação. Assim, o NT-proBNP exibiu associação predominante à mortalidade (e ao risco a mais curto prazo), enquanto o MR-proANP constitui preditor prognóstico independente de morbimortalidade (associando-se ao risco de eventos a mais longo prazo). Os doentes com níveis mais elevados de NT-proBNP (3.º tercil: > 1398 pg/mL) apresentaram seis vezes maior risco de morte e os doentes com níveis mais aumentados de MR-proANP (3.º tercil) tiveram três vezes maior risco de morte ou hospitalização por agravamento da HP. Demonstrámos ainda que a conjugação destes biomarcadores proporcionou valor acrescido na acuidade da estratificação prognóstica. Tal está de acordo com a hipótese de que os péptidos natriuréticos são parte integrante do sistema de contrarregulação fisiológico em doentes com HP



<i>Receiver operator characteristic curve analysis</i>			
Parâmetro	AUC	IC95%	Valor p
Score multi-biomarcador	0,94 ± 0,04	0,85-1,00	< 0,001
NTproBNP (log)	0,91 ± 0,05	0,81-1,00	< 0,001
MR-proANP	0,80 ± 0,09	0,62-0,97	0,010
Renina	0,84 ± 0,08	0,69-0,99	0,004
sST2	0,34 ± 0,07	0,69-0,98	0,004



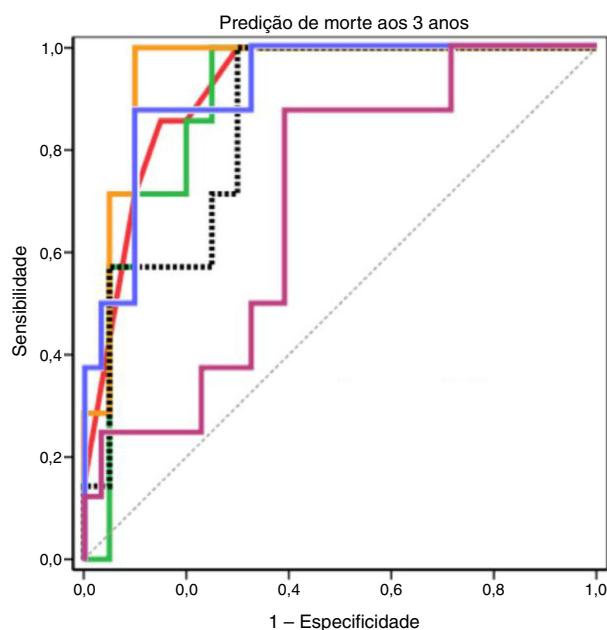
<i>Receiver operator characteristic curve analysis</i>			
Parâmetro	AUC	IC95%	Valor p
Score multi-biomarcador	0,86 ± 0,08	0,70-1,00	0,001
NTproBNP (log)	0,84 ± 0,08	0,68-1,00	0,002
MR-proANP	0,72 ± 0,10	0,54-0,92	0,035
Renina	0,66 ± 0,11	0,45-0,87	NS
sST2	0,79 ± 0,08	0,63-0,96	0,007

**Figura 3** Curvas ROC dos diferentes biomarcadores relativamente à predição de morte e morte ou internamento por causa cardíaca aos três anos.

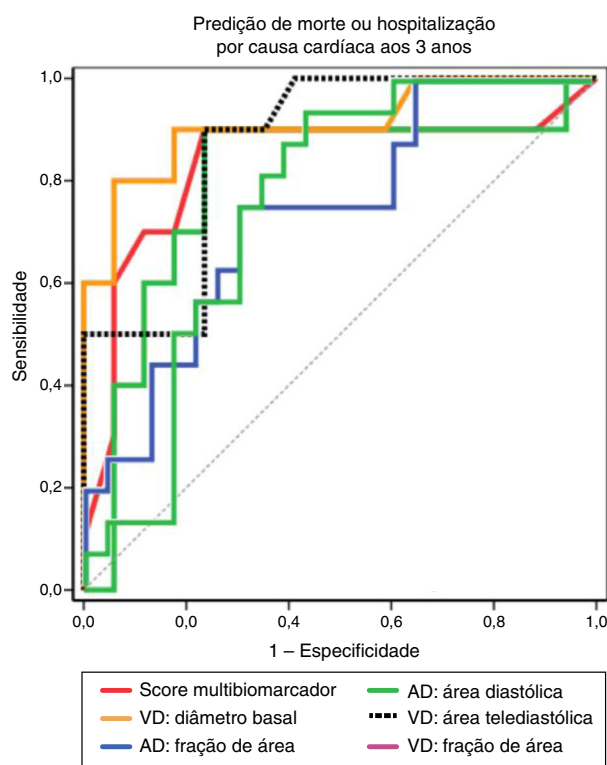
e disfunção ventricular direita, apresentando valor preditivo prognóstico indiscutível.

Estes resultados serão ainda mais interessantes se for considerado que estes péptidos podem, a curto prazo, constituir alvos terapêuticos. Como exemplo, foi recentemente demonstrado que a administração de ANP diminui significativamente a vasoconstrição e remodelagem adversa num modelo animal de HP<sup>24</sup>.

Os péptidos natriuréticos apresentam efeitos antagónicos relativamente ao SRAA<sup>25</sup>. A importância prognóstica do aumento da atividade do SRAA tem sido extensamente reconhecida na patologia do coração esquerdo<sup>25</sup>, mas permanece incerta no contexto da IC direita. Estudos sugerem que este sistema se encontra hiperativado na HP, integrando um mecanismo compensatório, embora com efeitos deletérios a longo prazo<sup>26</sup>. No entanto, ainda se sabe pouco



<i>Receiver operator characteristic curve analysis</i>			
Parâmetro	AUC	IC95%	Valor p
Score multi-biomarcador	0,94 ± 0,04	0,85-1,00	< 0,001
AD: área diastólica	0,89 ± 0,06	0,77-1,00	0,002
VD: diâmetro basal	0,95 ± 0,04	0,87-1,00	< 0,001
VD: área telediastólica	0,86 ± 0,07	0,71-1,00	0,006
AD: fração de área	0,92 ± 0,05	0,83-1,00	0,004
VD: fração de área	0,69 ± 0,10	0,51-0,88	NS (0,095)



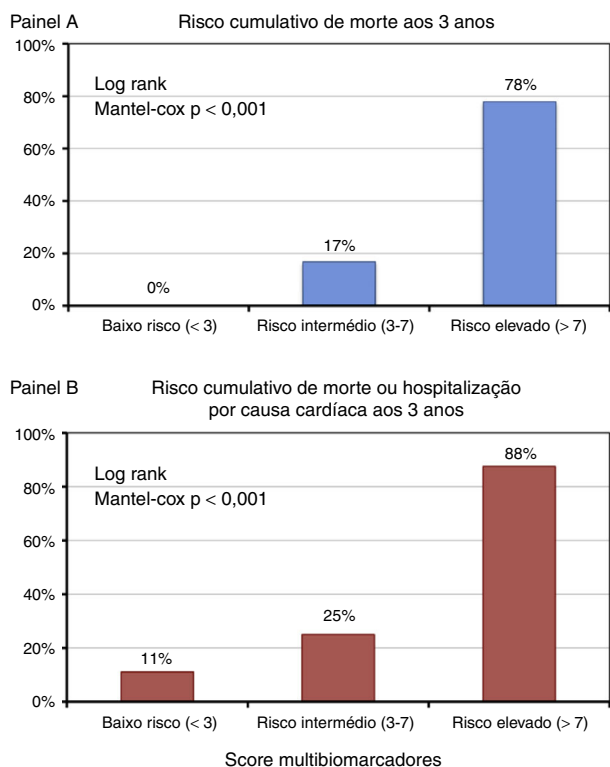
<i>Receiver operator characteristic curve analysis</i>			
Parâmetro	AUC	IC95%	Valor p
Score multi-biomarcador	0,94 ± 0,04	0,85-1,00	< 0,001
AD: área diastólica	0,79 ± 0,01	0,60-0,99	0,012
VD: diâmetro basal	0,91 ± 0,07	0,78-1,00	< 0,001
VD: área telediastólica	0,87 ± 0,07	0,73-1,00	0,002
AD: fração de área	0,73 ± 0,08	0,58-0,89	0,0014
VD: fração de área	0,75 ± 0,08	0,60-0,91	0,009

**Figura 4** Curvas ROC dos diferentes parâmetros ecocardiográficos relativamente à predição de morte e morte ou internamento por causa cardíaca aos três anos.

relativamente às alterações de sinalização do eixo no contexto de HP. Dois estudos independentes reportaram que alguns polimorfismos da enzima convertora de angiotensina (ECA) e do recetor de angiotensina II tipo 1 se associaram a progressão mais acelerada da HAP idiopática, remetendo para o envolvimento do SRAA<sup>27,28</sup>. O hiperaldosteronismo tem sido descrito recentemente como um promotor da doença vascular pulmonar em modelos experimentais de HAP<sup>29</sup>. Maron et al.<sup>30</sup> descreveram uma correlação positiva

entre os níveis plasmáticos de aldosterona e parâmetros hemodinâmicos (resistência vascular pulmonar e gradiente transpulmonar) em doentes com HAP.

Forfia et al.<sup>31</sup> demonstraram uma associação entre a ocorrência de hiponatremia (um indicador indireto da atividade do eixo), IC direita e mortalidade em doentes com HAP. Os nossos resultados não revelaram associação significativa entre a natremia e o risco de eventos após ajustamento para as outras variáveis. Tal traduzirá provavelmente a



**Figura 5** Risco cumulativo de morte (painel A) e morte ou hospitalização por causa cardíaca (painel B), de acordo com o score multimarcadores.

complexidade dos mecanismos subjacentes e o papel da terapêutica anticongestiva como fator modulador do potencial valor preditor dos níveis de sódio. Neste estudo, avaliaram-se parâmetros que de forma mais direta medem a atividade do SRAA (ECA, renina e aldosterona), algo ainda não investigado de forma sistemática em seguimento clínico a longo prazo. Observámos que os doentes que evoluíram desfavoravelmente exibiam aumento dos níveis séricos basais de renina, sem modificação dos níveis de ECA ou aldosterona. Estes resultados apontam para a complexidade dos mecanismos envolvidos, não só no que respeita à modulação intrínseca do eixo como também na dissociação entre a magnitude da sua ativação e a gravidade da doença. Possíveis explicações são a presença de outros estados de hiperaldosteronismo (ex. hipertensão arterial sistémica), diferenças interindividuais na homeostasia do sódio e fatores regulatórios circadianos da síntese aldosterona<sup>32</sup>. Os nossos resultados remetem para o potencial papel de estratégias terapêuticas que interfiram com o eixo RAAS.

A ET1 e a vasopressina são péptidos com um papel fundamental na fisiologia cardiovascular, apresentando propriedades vasoconstritoras. A ET-1, para além um potente vasoconstritor, apresenta propriedades proliferativas ao nível do músculo liso vascular, intervindo na patobiologia da HP. Os seus níveis séricos encontram-se significativamente elevados em doentes com HAP<sup>33</sup>, correlacionando-se com a gravidade da doença<sup>34</sup>, embora o seu valor prognóstico não tenha sido muito explorado.

A vasopressina é um péptido-hormona sintetizado no hipotálamo e armazenado na neuro-hipófise, apresentando propriedades antidiuréticas e vasoconstritoras. Os seus

níveis encontram-se elevados em doentes com IC<sup>35</sup>, contudo torna-se difícil a sua quantificação devido à curta semi-vida e ligação às proteínas plasmáticas. No entanto, a sua porção C-terminal (copeptina) é estável e pode ser facilmente quantificada, tendo sido estudada no contexto de IC e síndromes coronárias agudas. No estudo BACH<sup>36</sup>, níveis elevados de copeptina estavam associados a aumento da mortalidade aos 90 dias e internamentos por causa cardíaca. O valor prognóstico da copeptina na IC aguda e crónica foi subsequentemente confirmado<sup>37,38</sup>. Comparativamente à doença do coração esquerdo, o eixo neurohormonal tem sido pouco estudado em doentes com HP e IC direita. Na nossa população, observámos níveis mais elevados de copeptina e ET-1 entre os indivíduos que evoluíram desfavoravelmente (com morte e/ ou internamento por causa cardíaca).

O sST2 é um membro da superfamília de receptores Toll-like/IL-1, apresentando uma forma solúvel (sST2) e outra transmembranar (ST2L), sendo a interleucina-33 (IL-33) o ligando para ambas as formas. Consiste num biomarcador com efeitos pluripotenciais *in vivo*, cuja expressão é estimulada pela deformação mecânica dos fibroblastos cardíacos e cardiomiócitos, estando envolvido em processos de remodelagem e fibrose no contexto de IC. Estudos recentes demonstraram a presença de concentrações plasmáticas aumentadas de sST2 em contexto de IC aguda, apresentando relação significativa com a presença de remodelagem adversa ventricular esquerda e prognóstico<sup>4,39</sup>. Sanada et al.<sup>40</sup> demonstraram que a IL-33 atuando através de ST2L antagoniza a hipertrofia miocitária induzida por mecanismos neuro-hormonais. Estes autores reportaram também que o sST2 bloqueia os efeitos cardioprotetores da IL-33. Shimp et al.<sup>41</sup> demonstraram que em doentes com enfarte agudo do miocárdio, níveis elevados de sST2 foram preditores de IC e morte. O sST2 tem sido bastante estudado em doentes com dispneia e suspeita de IC descompensada. Numa subanálise do estudo PRIDE, Januzzi et al.<sup>42</sup> avaliaram os níveis de sST2 e NT-proBNP em doentes com dispneia aguda. Demonstraram que os níveis de sST2 estavam mais elevados nos doentes com IC aguda, apresentando maior valor prognóstico comparativamente ao NT-proBNP. Em doentes com IC crónica, o sST2 demonstrou ser preditor de morte súbita cardíaca<sup>43</sup>. Em resumo, o sST2 tem surgido nos últimos anos como um novo biomarcador de gravidade e prognóstico na IC, sendo que poucos estudos têm procurado avaliar o seu papel na IC direita secundária a HP. Zheng et al.<sup>44</sup> demonstraram num estudo recente uma correlação entre os níveis plasmáticos de sST2 e parâmetros hemodinâmicos numa população de doentes com HAP idiopática. Carlomano et al.<sup>45</sup> descreveram recentemente uma correlação entre os valores plasmáticos de sST2 e parâmetros dimensionais e de função ventricular direita avaliados por ressonância magnética cardíaca. Do ponto de vista hemodinâmico, doentes com pior função ventricular direita apresentam aumento das pressões de enchimento, maior stresse transmural com estiramento ventricular associado e maior produção de sST2. Assim, considerando a importância da função ventricular direita na estratificação de risco de doentes com HP<sup>46</sup>, com este estudo estabelece-se de uma forma consistente o valor da sST2 como novo biomarcador de prognóstico na IC direita. Este pode ser integrado, em combinação com outros biomarcadores, no modelo de estratificação de risco proposto neste trabalho.

A adaptação do coração direito à sobrecarga de pressão e as alterações morfológicas decorrentes no contexto de HP foram já previamente caracterizadas por várias modalidades de imagem e particularmente por ecocardiografia. Vários trabalhos identificaram previamente preditores prognósticos morfológicos e funcionais da AD e VD em doentes com HP<sup>47</sup>. Contudo, ainda não está completamente estabelecida a relação existente entre a distorção anatômica/dilatação cavitária e os vários parâmetros de (dis)função ventricular direita. Além disso, parece existir maior consistência na definição de prognóstico destes doentes para parâmetros relacionados com a dilatação ventricular direita *versus* parâmetros de função ventricular<sup>48</sup>. Nos estudos de intervenção com terapêutica específica existe mesmo uma correlação entre estes mesmos parâmetros e a melhoria funcional dos doentes.

### Limitações

Este estudo deve ser entendido como uma avaliação exploratória, numa população de doentes com IC direita secundária a HP (confirmada por cateterismo direito) de dimensão relativamente reduzida e durante um período de seguimento limitado. Além disso, a população incluída foi heterogénea no que respeita à etiologia, duração da doença e terapêutica em curso aquando da inclusão e durante o seguimento. As observações do presente trabalho terão que ser prospetivamente validadas em estudos externos de maior dimensão, antes que se possa perspetivar a sua utilização como critério de decisão clínica. Além disso, deverá ser avaliado o impacto da duração da doença e da terapêutica em curso no desempenho específico dos diferentes preditores prognósticos, seja dos biomarcadores, seja dos parâmetros anatómicos e funcionais da AD e VD.

### Conclusão

Neste estudo prospetivo demonstrámos que vários novos biomarcadores (MR-proANP, renina, copeptina, ET1, MR-proADM e sST2) juntamente com o NT-proBNP e os parâmetros dimensionais e de função das cavidades cardíacas direitas constituem preditores prognósticos relevantes em doentes com IC direita secundária a HP. Além disso, demonstrámos, pela primeira vez, que a avaliação conjugada dos níveis séricos de NT-proBNP, MR-proANP, renina e sST2 sintetizada num *score* multibiomarcador, melhora a acuidade da estratificação prognóstica. Este *score* multibiomarcador possibilitou a identificação dos doentes de alto risco, os quais poderão eventualmente beneficiar de intervenções terapêuticas multidisciplinares intensivas precoces.

### Responsabilidades éticas

**Proteção de pessoas e animais.** Os autores declaram que para esta investigação não se realizaram experiências em seres humanos e/ou animais.

**Confidencialidade dos dados.** Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

**Direito à privacidade e consentimento escrito.** Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Bibliografia

- Galiè N, Hoepfer MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2009;30:2493–537.
- Foris V, Kovacs G, Tscherner M, et al. Biomarkers in pulmonary hypertension: what do we know? *Chest*. 2013;144:274–83.
- Yap LB. B-type natriuretic Peptide and the right heart. *Heart Fail Rev*. 2004;9:99–105. Review.
- Shah RV, Chen-Tournoux AA, Picard MH, et al. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2, cardiac structure and function, and long-term mortality in patients with acute dyspnea. *Circ Heart Fail*. 2009;2:311–9.
- Weinberg EO, Shimp M, de Keulenaer GW, et al. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation*. 2002;106:2961–6.
- Klip IT, Voors AA, Anker SD, et al. Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin in patients with heart failure after an acute myocardial infarction. *Heart*. 2011;97:892–8.
- Pulido T, Adzerikho I, Channick RN, et al. Macitentan and morbidity and mortality in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2013;369:809–18.
- Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62 25 Suppl. D34–41.
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999;130:461–70.
- Papassotiriou J, Morgenthaler NG, Struck J, et al. Immunoluminometric assay for measurement of the C-terminal endothelin-1 precursor fragment in human plasma. *Clin Chem*. 2006;52:1144–51.
- Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, et al. Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem*. 2004;50:234–6.
- Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, et al. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem*. 2005;51:1823–9.
- Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, et al. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem*. 2006;52:112–9.
- Dieplinger B, Januzzi JL Jr, Steinmair M, et al. Analytical and clinical evaluation of a novel high-sensitivity assay for measurement of soluble ST2 in human plasma—the Presage ST2 assay. *Clin Chim Acta*. 2009;409:33–40.
- Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, et al. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest*. 1991;87:1402–12.
- Marcus LS, Hart D, Packer M, et al. Hemodynamic and renal excretory effects of human brain natriuretic peptide infusion in patients with congestive heart failure. A double-blind,

- placebocontrolled, randomized crossover trial. *Circulation*. 1996;94:3184-9.
17. Fonarow GC, Peacock WF, Phillips CO, et al. Admission B-type natriuretic peptide levels and in-hospital mortality in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1943-50.
  18. Cargill RI, Lipworth BJ. Pulmonary vasorelaxant activity of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in humans. *Thorax*. 1995;50:183-5.
  19. Rosenzweig A, Seidman CE. Atrial natriuretic factor and related peptide hormones. *Annu Rev Biochem*. 1991;60:229-55.
  20. Shah RV, Truong QA, Gaggin HK, et al. Mid-regional pro-atrial natriuretic peptide and pro-adrenomedullin testing for the diagnostic and prognostic evaluation of patients with acute dyspnoea. *Eur Heart J*. 2012;33:2197-205.
  21. Maisel A, Mueller C, Nowak R, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:2062-76.
  22. Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:202-8.
  23. Leuchte HH, Holzapfel M, Baumgartner RA, et al. Clinical significance of brain natriuretic peptide in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:764-70.
  24. Ou LC, Sardella GL, Hill NS, et al. Does atrial natriuretic factor protect against right ventricular overload? I. Hemodynamic study. *J Appl Physiol*. 1989;67:1606-11.
  25. Packer M, Lee WH, Kessler PD, et al. Role of neuro-hormonal mechanisms in determining survival in patients with severe chronic heart failure. *Circulation*. 1987;75:IV80-92.
  26. de Man FS, Tu L, Handoko ML, et al. Dysregulated renin angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186:780-9.
  27. Abraham WT, Reynolds MV, Badesch DB, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with primary pulmonary hypertension: Increased frequency and association with preserved haemodynamics. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2003;4:27-30.
  28. Chung WK, Deng L, Carroll JS, et al. Polymorphism in the angiotensin II type 1 receptor (AGTR1) is associated with age at diagnosis in pulmonary arterial hypertension. *J Heart Lung Transplant*. 2009;28:373-9.
  29. Maron BA, Zhang Y-Y, White K, et al. Aldosterone inactivates the endothelin-B receptor via a cysteinyl thiol redox switch to decrease pulmonary endothelial nitric oxide level and modulate pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2012;126:963-74.
  30. Maron BA, Opatowsky AR, Landzberg MJ, et al. Plasma aldosterone levels are elevated in patients with pulmonary arterial hypertension in the absence of left ventricular heart failure: a pilot study. *Eur J Heart Fail*. 2013;15:277-83.
  31. Forfia PR, Mathai SC, Fisher MR, et al. Hyponatremia predicts right heart failure and poor survival in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:1364-9.
  32. Bolbrinker J, Beige J, Huber M, et al. Role of CYP2C9 genetic variants for salt sensitivity and the regulation of the renin-angiotensin-aldosterone system in normotensive men. *J Hypertens*. 2011;29:56-61.
  33. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, et al. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease. *Ann Intern Med*. 1991;114:464-9.
  34. Rubens C, Ewert R, Halank M, et al. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest*. 2001;120:1562-9.
  35. Chatterjee K. Neurohormonal activation in congestive heart failure and the role of vasopressin. *Am J Cardiol*. 2005;95:8-13.
  36. Maisel A, Xue Y, Shah K, et al. Increased 90-day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) study. *Circ Heart Fail*. 2011;4:613-20.
  37. Tentzeris I, Jarai R, Farhan S, et al. Complementary role of copeptin and high-sensitivity troponin in predicting outcome in patients with stable chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2011;13:726-33.
  38. Gegenhuber A, Struck J, Dieplinger B, et al. Comparative evaluation of B-type natriuretic peptide, mid-regional pro-A type natriuretic peptide, mid-regional pro-adrenomedullin, and copeptin to predict 1-year mortality in patients with acute destabilized heart failure. *J Card Fail*. 2007;13:42-9.
  39. Ky B, French B, McCloskey K, et al. High-sensitivity ST2 for prediction of adverse outcomes in chronic heart failure. *Circ Heart Fail*. 2011;4:180-7.
  40. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, et al. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest*. 2007;117:1538-49.
  41. Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, et al. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:2186-90.
  42. Januzzi JL Jr, Peacock WF, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:607-13.
  43. Pascual-Figal DA, Ordoñez-Llanos J, Tornel PL, et al. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:2174-9.
  44. Zheng YG, Yang T, He JG, et al. Plasma soluble ST2 levels correlate with disease severity and predict clinical worsening in patients with pulmonary arterial hypertension. *Clin Cardiol*. 2014;37:365-70.
  45. Carlomagno G, Messalli G, Melillo RM, et al. Serum soluble ST2 and interleukin-33 levels in patients with pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol*. 2013;168:1545-7.
  46. Bogaard HJ, Abe K, Vonk Noordegraaf A, et al. The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right-heart failure in pulmonary hypertension. *Chest*. 2009;135:794-804.
  47. Bossone E, D'Andrea A, D'Alto M, et al. Echocardiography in pulmonary arterial hypertension: from diagnosis to prognosis. *J Am Soc Echocardiogr*. 2013;26:1-14.
  48. Van Wolferen SA, Marcus JT, Boonstra A, et al. Prognostic value of right ventricular mass, volume, and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2007;28:1250-7.